

**AVALIAÇÃO DE NEMATÓIDES
ENTOMOPATOGÊNICOS (RHABDITIDA)
PARA O CONTROLE DA MOSCA-DAS-
FRUTAS *Ceratitis capitata* (WIEDEMANN)
(DIPTERA: TEPHRITIDAE)**

CRISTHIANE ROHDE

2007

CRISTHIANE ROHDE

**AVALIAÇÃO DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS
(RHABDITIDA) PARA O CONTROLE DA MOSCA-DAS-FRUTAS
Ceratitis capitata (WIEDEMANN) (DIPTERA: TEPHRITIDAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia/Entomologia, área de concentração em Entomologia Agrícola, para obtenção do título de “Mestre”.

Orientador: Prof. Dr. Alcides Moino Júnior

Lavras
Minas Gerais – Brasil
2007

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca Central da UFLA**

Rohde, Cristhiane

Avaliação de nematóides entomopatogênicos (Rhabditida) para o controle da
mosca-das-frutas *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) /

Cristhiane Rohde. -- Lavras : UFLA, 2007.

63 p. : il.

Orientador: Alcides Moino Junior.

Dissertação (Mestrado) – UFLA.

Bibliografia.

1. Mosca-das-frutas. 2. Nematóide entomopatogênico. I. Universidade Federal
de Lavras. II. Título.

CDD-595.182

CRISTHIANE ROHDE

**AVALIAÇÃO DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS
(RHABDITIDA) PARA O CONTROLE DA MOSCA-DAS-FRUTAS
Ceratitis capitata (WIEDEMANN) (DIPTERA: TEPHRITIDAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras como parte das exigências do Programa de Pós-graduação em Agronomia/Entomologia, área de concentração em Entomologia Agrícola, para obtenção do título de “Mestre”.

APROVADA em 26 de fevereiro de 2007

Dr. Luís Garrigós Leite

Instituto Biológico

Prof. Dr. Jair Campos Moraes

UFLA

Prof. Dr. Alcides Moino Junior
UFLA
(Orientador)

Lavras
Minas Gerais – Brasil
2007

A minha nona Adelina (*in memoriam*) pela grande
mulher que foi, inspirando a todos pela sua garra,
paciência, sabedoria e amor.

Ofereço

Aos meus pais Gervásio e Sirlei pelo amor e apoio
incondicional que dedicam a mim, sendo exemplo de
dedicação, amor, humildade, persistência e honestidade.

Dedico

AGRADECIMENTOS

A Deus por guiar a minha vida, me colocar entre pessoas maravilhosas e me conceder ótimas oportunidades.

À Universidade Federal de Maringá pela oportunidade concedida para a realização do curso.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pela concessão da bolsa.

Ao professor Alcides Moino Junior pela orientação, confiança, aprendizado e amizade.

Aos meus pais, que não mediram esforços para a realização deste sonho.

Às minhas irmãs Mara, Andra, Ane e Jose pelo amor dedicado, apoio constante, incentivo, confiança e certeza de que sempre estiveram comigo.

À minha sobrinha Nathália, pelas alegrias proporcionadas, que mesmo sem compreender o significado de um mestrado, me ajudou nesta conquista.

Ao professor Luis F. A. Alves (Universidade Estadual do Oeste do Paraná) por me apresentar o fantástico mundo científico, pelas oportunidades, apoio, aprendizado e amizade.

Aos professores Jair Campos Moraes pelas consultorias e dicas que foram fundamentais para realização deste trabalho.

Ao professor Luis Cláudio Paterno Silveira e ao pesquisador Luis Garrigós Leite (Instituto Biológico) pela valiosa contribuição neste trabalho.

A professora Brígida Souza e ao professor Geraldo Andrade Carvalho pelos ensinamentos, apoio e amizade.

Aos professores do Departamento de Entomologia pelos ensinamentos transmitidos, apoio, estímulo e exemplo de profissionalismo.

Aos funcionários do Departamento de Entomologia pela amizade e auxílio durante todo o curso.

Ao pesquisador Rômulo Carvalho, do Laboratório de Entomologia do Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura Tropical/Embrapa, pelo fornecimento dos insetos para realização deste trabalho.

Aos amigos Fabiano e Marco Aurélio pela valiosa ajuda durante todo o curso e na realização deste trabalho, pelas lições de vida e pela grande amizade.

A Daiane, que ao longo deste período se transformou em uma grande irmã, pela ótima convivência, carinho, incentivo e ajuda.

A Viviane, que vem me ajudando, aconselhando, apoiando antes mesmo de vir para Lavras, sendo uma grande amiga.

Aos amigos Gilberto, Clério, Cândido e Tália pelos ótimos momentos de convivência, incentivo e conselhos.

Aos amigos do Laboratório Gisele, Grazielle, Iuri, Ricardo e Vanessa pelo auxílio, conselhos e troca de experiências.

Ao Cleidson pela grande ajuda na condução dos experimentos.

Às amigas Ana Paula e Nulcena que me acolheram como membro da família.

Aos colegas do Departamento de Entomologia e companheiros de turma pela troca de experiências, apoio e incentivo.

A todos aqueles que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho.

Sinceramente agradeço

SUMÁRIO

RESUMO.....	i
ABSTRACT.....	ii
1 INTRODUÇÃO.....	01
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	04
2.1 Importância da fruticultura no Brasil.....	04
2.2 Família Tephritidae.....	05
2.2.1 Aspectos gerais.....	05
2.2.2 Importância econômica.....	06
2.2.3 <i>Ceratitis capitata</i>	08
2.2.3.1 Aspectos morfológicos.....	08
2.2.3.2 Ciclo de vida.....	09
2.3 Formas de controle da mosca-das-frutas.....	10
2.3.1 Controle microbiano.....	11
2.3.1.1 Nematóides entomopatogênicos.....	12
2.3.1.1.1 Importância.....	12
2.3.1.1.2 Aspectos biológicos.....	13
2.3.1.1.3 Fatores abióticos que afetam a eficiência dos nematóides entomopatogênicos.....	14
2.3.1.1.4 Possibilidades de controle da mosca-das-frutas com nematóides entomopatogênicos.....	17
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
3.1 Criação de <i>Ceratitis capitata</i>	20
3.2 Obtenção dos nematóides entomopatogênicos.....	22
3.2.1 Criação de <i>Galleria mellonella</i>	22
3.3.2 Multiplicação e manutenção de nematóides entomopatogênicos.....	23

3.4 Patogenicidade de isolados de <i>Steinernema</i> e <i>Heterorhabditis</i> sobre larvas e pupas de <i>C. capitata</i>	24
3.5 Efeito de concentrações de isolados de <i>Steinernema</i> e <i>Heterorhabditis</i> sobre larvas de <i>C. capitata</i>	26
3.6 Efeito de <i>Steinernema</i> e <i>Heterorhabditis</i> aplicados de forma isolada ou combinada sobre larvas de <i>C. capitata</i>	26
3.7 Efeito da aplicação do nematóide em diferentes períodos de infestação do solo com larvas de <i>C. capitata</i>	27
3.8 Influência da temperatura na eficiência de <i>Steinernema</i> e <i>Heterorhabditis</i> sobre larvas de <i>C. capitata</i>	27
3.9 Influência da umidade do solo na eficiência de <i>Steinernema</i> e <i>Heterorhabditis</i> sobre larvas de <i>C. capitata</i>	28
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	30
4.1 Patogenicidade de isolados de <i>Steinernema</i> e <i>Heterorhabditis</i> sobre larvas de <i>C. capitata</i>	30
4.1.1 Larvas.....	30
4.1.2 Pupas.....	33
4.3 Efeito de concentrações de isolados de <i>Steinernema</i> e <i>Heterorhabditis</i> sobre larvas de <i>C. capitata</i>	37
4.4 Efeito de <i>Steinernema</i> e <i>Heterorhabditis</i> aplicados de forma isolada ou combinada sobre larvas de <i>C. capitata</i>	38
4.5 Efeito da aplicação do nematóide em diferentes períodos de infestação do solo com larvas de <i>C. capitata</i>	41
4.6 Influência da temperatura na eficiência de <i>Steinernema</i> e <i>Heterorhabditis</i> sobre larvas de <i>C. capitata</i>	42
4.7 Influência da umidade do solo na eficiência de <i>Steinernema</i> e <i>Heterorhabditis</i> sobre larvas de <i>C. capitata</i>	45
5 CONCLUSÕES.....	48
6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
ANEXO.....	60

RESUMO

ROHDE, Cristhiane. **Avaliação de nematóides entomopatogênicos (Rhabditida) para o controle da mosca-das-frutas *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae)**. Lavras: UFLA, 2007. 63 p. (Dissertação – Mestrado em Agronomia/Entomologia).*

A mosca-das-frutas é considerada uma das principais pragas da fruticultura mundial, acarretando perdas significativas para este setor. Este inseto passa uma fase de sua vida no solo, sendo alvo em potencial para nematóides entomopatogênicos. Assim, este trabalho teve como objetivos avaliar a eficiência de diferentes isolados de nematóides entomopatogênicos contra larvas e pupas de *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae), bem como avaliar a influência da temperatura e umidade do solo sobre a eficiência deste entomopatogeno. Foi avaliada a patogenicidade de diferentes isolados de *Steinernema* e *Heterorhabditis* sobre larvas e pupas de *C. capitata*. Cada tratamento teve quatro repetições, com 20 indivíduos cada, acondicionados em placas de Petri, sobre a qual foi inoculado 1 mL de suspensão com 200 JI/inseto. Os isolados mais virulentos para larvas foram selecionados e avaliados nas concentrações que variaram de 50 a 400JI/inseto. Foi avaliada, ainda, a eficiência de *S. carpocapsae* e *Heterorhabditis* sp. RSC01 quando aplicados de forma isolada ou combinada, o efeito da aplicação do nematóide em diferentes períodos de infestação do solo com larvas, além da influência da temperatura e umidade do solo sobre a eficiência destes isolados. Estes bioensaios foram realizados em potes plásticos contendo 100 g de solo e 10 larvas de *C. capitata*, sendo aplicados 125JI/cm². As avaliações foram realizadas após cinco dias. Verificou-se que todos os isolados foram patogênicos para larvas e pupas de *C. capitata*, sendo que *S. carpocapsae* e *Heterorhabditis* sp. RSC01 causaram mortalidade superior a 85% para a fase larval e *Heterorhabditis* sp. PI, *Heterorhabditis* sp. JPM4, *H. bacteriophora* HP88, *S. feltiae* e *S. glaseri* foram os mais eficientes para a fase de pupa, com a mortalidade variando entre 35 e 44%. A aplicação conjunta de *S. carpocapsae* e *Heterorhabditis* sp. RSC01 aumentou a eficiência de *Heterorhabditis* sp. RSC01. Independentemente do intervalo de infestação do solo com larvas, *S. carpocapsae* e *Heterorhabditis* sp. RSC01 foram eficientes contra *C. capitata*. A virulência dos nematóides estudados foi diretamente proporcional ao aumento da temperatura e foi baixa em condições de umidade do solo extremas.

* Orientador: Alcides Moino Junior - UFLA

ABSTRACT

ROHDE, Cristhiane. **Evaluation of Entomopathogenic nematodes (Rhabditida) for controlling fruit flies *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae).** Lavras: UFLA, 2007. 63 p. (Dissertation – Master in Agronomy/Entomology).*

Fruit flies is considered one of the key pest in the world fruitculture causing significant losses for this sector. This insect passes a phase of its life in the soil, being the potential target for the entomopagenic nematodes. Therefore this work aim get to evaluate the efficiency of different entomopatogenic nematod isolates against larva and pupa of *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae), as well as to evaluate the influence of soil temperature and wetness over the efficiency of this pathogen. It was evaluated the pathogenicity of different isolates of *Steinernema* e *Heterorhabditis* over larva and pupas of *C. capitata*. Each treatment had four replications, with 20 individuals each, conditioned in Petri dishes, over which it was inoculated 1 mL suspension with 200 JI/insect. The isolates more virulent for the larvae were selected and evaluated in the concentrations which ranged from 50 to 400JI/insect. It was also evaluated the efficiency of *S. carpocapsae* and *Heterorhabditis* sp. RSC01 when isolate applicated in an isolate way or combined, the effect of the nematode application in different periods of infestation of soil with larvae, besides the influence of the soil temperature and wetness over the efficiency of those isolates. These bioassays were made in plastic jars containing 100 g soil and 10 larvae of *C. capitata*, being applicated 125JI/cm². The evaluations were done after five days. It was verified that all the isolates were pathogenic for the larva and pupas of *C. capitata*, hence that *S. carpocapsae* and *Heterorhabditis* sp. RSC01 caused mortality rate higher than 85% for the larva phase and *Heterorhabditis* sp. PI, *Heterorhabditis* sp. JPM4, *H. bacteriophora* HP88, *S. feltiae* and *S. glaseri* were more efficient for the pupa phase, with mortality rate ranging between 35 and 44%. The combined application of *S. carpocapsae* and *Heterorhabditis* sp. RSC01 increased the efficiency of *Heterorhabditis* sp. RSC01. Independently from the soil infestation interval with larvae, *S. carpocapsae* and *Heterorhabditis* sp. RSC01 were efficient against *C. capitata*. The virulence of studied nematodes was directly proportional to the increase of temperature and it was low in extreme soil condition of wetness.

* Advisor: Alcides Moino Junior - UFLA

1 INTRODUÇÃO

O Brasil está entre os três maiores produtores mundiais de frutas, com uma produção que supera os 38 milhões de toneladas/ano. Este setor é responsável por gerar 13% do valor da produção agrícola brasileira, além de empregar diretamente seis milhões de trabalhadores, correspondendo a 27% do total da mão-de-obra agrícola gerada no país (Ibraf, 2007).

No entanto, estes dados poderiam ser otimizados com o aumento da exportação de frutas *in natura*, a qual é muito inferior em relação à capacidade de produção deste setor. Uma das principais causas deste índice reduzido de exportação é a presença de pragas, com destaque para a mosca-das-frutas (Diptera: Tephritidae).

A mosca-das-frutas acarreta perdas significativas à fruticultura mundial devido aos danos que ocorrem em consequência da oviposição realizada pelas fêmeas nos frutos, e também por serem consideradas pragas quarentenárias, o que acarreta limitação do livre trânsito de frutas frescas pelas restrições impostas por medidas quarentenárias dos países importadores (White & Elson-Harris, 1992a; Bueno, 2000; Malavasi, 2000).

Dentre os gêneros de maior importância agrícola destacam-se *Anastrepha* Schiner, *Bactrocera* Macquart, *Ceratitis* MacLeay, *Ragoletis* Loew, *Dacus* Fabricius e *Toxotrypana* Gerstaecker (Korneyev, 1999). No Brasil, somente os quatro primeiros gêneros apresentam importância econômica, tendo destaque *Anastrepha* e *Ceratitis* (Zucchi, 2000).

O gênero *Ceratitis* é composto por aproximadamente 65 espécies, que ocorrem principalmente na África tropical. Do ponto de vista agrícola destaca-se a espécie *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (mosca-do-mediterrâneo), a qual é reconhecida como uma das mais sérias pragas da fruticultura em escala mundial

por estar distribuída em todas as regiões biogeográficas do mundo, além da sua diversidade de hospedeiros, da natureza do dano causado e da sua grande adaptabilidade (Zucchi, 2000).

Segundo Nascimento & Carvalho (2000), o controle químico é o método mais utilizado para o combate das moscas-das-frutas, porém esta forma de controle, tanto em pulverização em cobertura quanto em isca tóxica, contribui de forma acentuada para o desequilíbrio do agroecossistema, atingindo os inimigos naturais e outros organismos não alvos. Além disso, este método deixa resíduos tóxicos nos frutos, prejudicando a comercialização e o consumo do fruto *in natura*.

O controle microbiano pode ser uma alternativa viável, visto que os agentes entomopatogênicos destacam-se pela especificidade ao hospedeiro, seletividade aos insetos benéficos, inocuidade a animais endotérmicos, não poluem o meio ambiente, além de apresentarem formas de resistência que aumentam sua persistência no campo (Alves, 1998).

Carvalho et al. (2000) consideram a utilização de entomopatógenos promissora no controle de moscas-das-frutas, apesar dos poucos trabalhos encontrados na área. Os autores ressaltam, ainda, que dentre estes trabalhos predominam aqueles realizados com fungos e nematóides entomopatogênicos.

Grewal et al. (2001) também consideram promissora a utilização de nematóides entomopatogênicos pertencentes aos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* (Rhabditida: Steinernematidae e Heterorhabditidae) no controle de moscas-das-frutas, já que estas passam uma fase de sua vida no solo, permitindo a ação deste entomopatógeno. Assim, os objetivos foram:

- Avaliar a patogenicidade e a virulência de isolados nativos e exóticos de nematóides entomopatogênicos sobre larvas e pupas de *C. capitata* em condições de laboratório;

- Avaliar a virulência de *Steinernema* e *Heterorhabditis* aplicados de forma isolada e combinada sobre larvas de *C. capitata*;
- Avaliar a virulência de *Steinernema* e *Heterorhabditis* aplicados em diferentes períodos de infestação do solo com larvas de *C. capitata*;
- Avaliar a influência da temperatura e umidade na virulência de nematóides entomopatogênicos sobre larvas de *C. capitata*.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Importância da fruticultura no Brasil

Atualmente o Brasil é considerado um dos três maiores produtores mundiais de frutas, com uma produção que supera o valor de 38 milhões de toneladas/ano, destacando-se na produção de laranja, coco, mamão e banana (Ibraf, 2007).

O setor da fruticultura tem grande representatividade na economia brasileira, sendo que o valor bruto da produção de frutas rendeu, em 2003, cerca de 12,3 bilhões de reais, o que corresponde a 13% do valor da produção agrícola brasileira. Além disso, este setor é responsável por gerar, em média, seis milhões de empregos diretos, ou seja, 27% do total da mão-de-obra agrícola ocupada no país (Ibraf, 2007).

Grande parte da produção de frutas no Brasil é destinada ao consumo interno, já que o país encontra-se em 10º lugar no consumo *per capita* de frutas (57 Kg/ano) (Ibraf, 2007).

Apesar de a fruticultura brasileira ser considerada uma das maiores do mundo, no que se refere à produção de frutas frescas e áreas cultivadas, apresenta, no entanto, uma produção destinada à exportação muito reduzida.

Segundo Souza-Filho (2002), o índice reduzido de exportação de frutas brasileiras se deve, principalmente, ao baixo nível tecnológico aplicado no cultivo das frutíferas, tendo reflexo direto na qualidade dos frutos produzidos, com destaque para a presença de pragas, doenças e plantas invasoras.

Dentre as pragas que ocorrem nas frutíferas, as espécies pertencentes à família Tephritidae são relatadas como principais, causando prejuízos para o setor mundial de fruticultura.

2.2 Família Tephritidae

2.2.1. Aspectos gerais

A família Tephritidae (Diptera) pertence à superfamília Tephritoidea e encontra-se subdividida em seis subfamílias: Tachiniscinae, Blepharoneurinae (5 gêneros), Phytalmiinae (6 gêneros), Trypetinae (235 gêneros, incluindo *Anastrepha*, *Rhagoletis* e *Toxotrypana*), Dacinae (39 gêneros, incluindo *Ceratitis*, *Bactrocera* e *Dacus*) e Tephritinae (211 gêneros). Esta família compreende os insetos conhecidos comumente por mosca-das-frutas, sendo descritas aproximadamente 4000 espécies agrupadas em 500 gêneros (White & Elson-Harris, 1992c; Korneyev, 1999).

As espécies de tefritídeos podem ser divididas em dois grandes grupos com base em suas características fisiológicas e ecológicas, sendo que, no primeiro grupo, incluem-se as espécies univoltinas, ou seja, aquelas que apresentam uma única geração anual, com diapausa de inverno e de ocorrência em regiões de clima temperado. Em oposição, o segundo grupo abrange as espécies multivoltinas, que são aquelas que apresentam mais de uma geração por ano, sem diapausa de inverno e de ocorrência tropical ou subtropical (Bateman, 1972).

Os representantes desta família apresentam, ainda, grande diversidade morfológica e comportamental, incluindo os diferentes hábitos alimentares, tendo indivíduos fitófagos, saprófagos e zoófagos, sendo que os primeiros são predominantes e muitos são considerados pragas de frutíferas, com destaque para os gêneros *Anastrepha*, *Ceratitis*, *Bactrocera*, *Dacus*, *Toxotrypana* e *Ragoletis* (Korneyev, 1999).

Ainda com relação às espécies que apresentam hábito alimentar fitófago, estas podem ser especialistas, ou seja, utilizam somente uma espécie de planta hospedeira em uma dada localidade, ou generalistas, utilizando várias famílias

diferentes de plantas hospedeiras. Outras espécies podem, ainda, apresentar diferentes graus de especialização entre estes dois extremos (Selivon, 2000).

A distribuição geográfica das moscas-das-frutas está intimamente relacionada com a distribuição do seu hospedeiro, sendo mais provável que as espécies generalistas apresentem maior distribuição geográfica em relação às especialistas (Selivon, 2000).

A família Tephritidae encontra-se distribuída em todo o mundo, exceto na Antártica. Com relação aos gêneros de importância econômica tem-se a seguinte distribuição: *Anastrepha*: América do Sul, América Central, Caribe e, na América do Norte, apenas no México, no sul do Texas e no centro-sul da Flórida; *Toxotrypana*: Américas do Norte, Central e do Sul; *Ceratitis*: África, sul da Europa, Oriente Médio, Caribe, Austrália, Ilhas do Pacífico, Américas do Norte, Central e do Sul; *Rhagoletis*: Europa, Américas do Norte, Central e do Sul; *Bactrocera*: Ásia tropical e temperada, África tropical, Austrália, Ilhas do Pacífico, sul da Europa e norte da América do Sul; e *Dacus*: África tropical, Austrália, Oriente Médio e Ilhas do Oceano Índico (Malavasi et al., 2000).

No Brasil, as espécies de moscas-das-frutas de importância econômica pertencem aos gêneros *Anastrepha*, *Ceratitis*, *Bactrocera* e *Rhagoletis*. Os dois primeiros gêneros destacam-se dos demais por apresentarem ocorrência generalizada no país, além da diversidade de plantas hospedeiras (Zucchi, 2000).

2.2.2 Importância econômica

A mosca-das-frutas é considerada uma das principais pragas da fruticultura mundial, acarretando perdas significativas para este setor devido aos danos diretos e indiretos que ocasiona.

Os danos diretos ocorrem devido à oviposição realizada pelas fêmeas no fruto em amadurecimento. Em diversas espécies de frutas, tais como ameixa, pêra, maçã e citros, a epiderme fica marcada no local da oviposição e, com o

desenvolvimento fisiológico do fruto, forma-se uma concavidade ou deformação, depreciando o mesmo. Em outras frutíferas, como a manga, observa-se, no local da oviposição, material exudado de seiva. No entanto, em algumas espécies de frutos, a infestação das larvas não é perceptível, pois o visual externo permanece inalterado, porém, quando as larvas saem dos frutos para o solo, pode-se perceber o orifício de sua saída na epiderme e constata-se a perda de sua consistência (Carvalho, 2005).

Além destes danos diretos causados no fruto infestado, o local de oviposição pode servir como porta de entrada para microrganismos, causando a contaminação e apodrecimento do mesmo (Carvalho, 2005).

As larvas também causam danos nos frutos, visto que se alimentam da sua polpa, causando, em geral, apodrecimento da área e queda precoce do fruto (White & Élson-Harris, 1992a; Saldanha & Silva, 1999).

Os danos diretos são responsáveis por causar redução na produção, uma vez que os frutos infestados caem precocemente da frutífera ou são inviáveis para comercialização; aumento no custo da produção, devido ao emprego de medidas de controle; menor valor da produção, já que os frutos de baixa qualidade têm menor valor comercial; e menor tempo de prateleira, pois frutos infestados pela mosca apodrecem mais rapidamente.

As perdas indiretas decorrem do fato da mosca-das-frutas ser considerada praga quarentenária, o que ocasiona prejuízos ao setor devido à imposição dos países importadores de barreiras fitossanitária e à exigência de que a área de origem dos frutos seja livre de mosca-das-frutas (White & Élson-Harris, 1992a; Bueno, 2000; Malavasi, 2000).

Além dos danos diretos e indiretos causados pelas moscas-das-frutas, a grande disseminação, a fácil adaptabilidade ao ambiente e o grande número de plantas hospedeiras representam obstáculos para o Brasil em relação à produção e à livre comercialização de frutas frescas (Malavasi, 2000).

Este fato pode ser comprovado com o baixo rendimento obtido com a exportação de frutas frescas em 2005, que foi de aproximadamente 400 milhões de dólares, quando comparado ao rendimento de exportação de frutas processadas, que somente até o mês de julho de 2005 ultrapassou a casa dos 660 milhões de dólares (Ibraf, 2007).

Segundo a FAO (Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura), as moscas-das-frutas são responsáveis por causar um prejuízo de aproximadamente 1,7 bilhões de dólares por ano no mundo, sendo que 10% deste prejuízo encontra-se concentrado no Brasil (Ibraf, 2005).

Dentre todas as espécies pertencentes à família Tephritidae, *C. capitata* é considerada a mais cosmopolita e invasora, com ocorrência em todas as regiões biogeográficas, sendo, conseqüentemente, a espécie que mais causa danos à fruticultura em todo o mundo (Zucchi, 2001).

Nascimento & Carvalho (2000) ressaltam que *C. capitata* é a espécie de mosca-das-frutas que ataca o maior número de hospedeiros comerciais e utiliza mais de 200 outros hospedeiros alternativos.

Segundo Zucchi (2001), esta espécie encontra-se disseminada em 16 estados brasileiros, podendo ter ocorrência nos demais estados, porém sem registro.

2.2.3 *Ceratitidis capitata*

2.2.3.1 Aspectos morfológicos

Os ovos de *C. capitata* apresentam formato alongado e ligeiramente curvo, com 1 mm de comprimento, apresentando coloração que varia entre o branco e o amarelo, com uma das extremidades levemente escurecidas.

A larva é do tipo vermiforme, com o corpo liso dividido em onze segmentos de igual comprimento, apresentando uma coloração que varia de

branco a branco amarelado. A larva completamente desenvolvida mede cerca de 8 mm de comprimento (White & Elson-Harris, 1992b).

A pupa é do tipo coarctada, recoberta por uma estrutura rígida e de cor marrom escura, denominada pupário. A pupa propriamente apresenta uma coloração que varia de branco até amarelo, com formato indefinido (Salles, 1995).

O adulto apresenta um comprimento que varia entre 4 e 5 mm por 10 a 12 mm de envergadura, apresentando coloração predominantemente amarela. O tórax é preto na face superior, com desenhos simétricos brancos. As asas são transparentes, com listras amarelas. O abdome é amarelo, com duas listras transversais acinzentadas. A distinção do sexo do adulto é facilitada, já que a fêmea possui o ovipositor saliente no final do abdome, o qual termina em um alongamento pontiagudo, enquanto, no macho, o abdome termina em forma arredondada (White & Elson-Harris, 1992b; Salles, 1995).

2.2.3.1 Ciclo de vida

A fêmea madura sexualmente e acasalada, ao localizar o hospedeiro, introduz seu ovipositor através da epiderme do fruto e oviposita em uma câmara, onde coloca um número variável de ovos de acordo com a planta hospedeira, sendo que, em pêssego, são colocados, em média, 10,5 ovos por postura, em café, 5,8 e em maçã, 5,3 (Souza et al., 1983; Zucchi, 2001). O número de ovos depositados por fêmea ao longo de sua vida reprodutiva varia de 300 a 1000 (Zucchi, 2001).

No interior do fruto a larva passa por três instares. Ao eclodir, alimenta-se continuamente da polpa do fruto até atingir seu último instar, período este em que abandona o fruto e penetra no solo para transformar-se em pupa.

Os adultos copulam sobre as plantas hospedeiras com frutos em amadurecimento. Após a cópula, a fêmea permanece por um período que varia

entre 13 e 19 dias (período de pré-oviposição) em processo de maturação dos ovos, alimentando-se de proteínas e carboidratos para produzir descendentes férteis. Passado este período, a fêmea procura frutos em amadurecimento para realizar a oviposição (Zucchi, 2001). Embora as fêmeas, após a oviposição, marquem o fruto com feromônio, várias fêmeas podem ovipositar no mesmo fruto (Prokopy et al., 1978).

O ciclo ovo-adulto de *C. capitata* a 25°C apresenta duração média de 30 dias, sendo a duração média do período embrionário de dois dias; da fase larval, de 11 dias; e da fase de pupa, de 17 dias. A longevidade dos adultos em condições de laboratório tem duração média de um ano, no entanto, na natureza este período reduz para três meses (Zucchi, 2001).

2.3 Formas de controle da mosca-das-frutas

O controle da mosca-das-frutas, até o final da década de 80, baseava-se quase exclusivamente no controle químico. No entanto, devido à utilização indiscriminada de produtos químicos, surgiram problemas tais como a ressurgência de pragas, insetos resistentes, contaminação do meio ambiente e resíduos no produto final de comercialização, sentindo-se a necessidade de utilizar outras práticas de controle para o combate da praga.

Atualmente, o controle da mosca-das-frutas pode ser realizado através de métodos culturais, técnica do inseto estéril, controle legislativo, químico e biológico. O controle biológico pode ser realizado por meio de predadores, parasitóides e entomopatógenos.

2.3.1 Controle microbiano

A utilização de agentes entomopatogênicos no controle de insetos-praga merece destaque pois, entre as vantagens apresentadas por estes microrganismos, podem ser citadas a especificidade pelo hospedeiro, a seletividade aos insetos benéficos, a inocuidade a animais endotérmicos e o fato de não poluírem o meio ambiente, além de apresentarem formas de resistência que aumentam a persistência no campo. Dentre os microrganismos patogênicos aos insetos encontram-se bactérias, vírus, fungos, nematóides, protozoários, rickétsias e mollicutes (Alves, 1998).

Vale ressaltar, no entanto, que mesmo apresentando inúmeras vantagens, o controle microbiano não pode ser utilizado de forma isolada, devendo fazer parte de um conjunto de medidas que, atuando em harmonia entre si e com o meio ambiente, seja capaz de reduzir a população de insetos-praga a níveis que não causem danos econômicos (Alves, 1998).

Em relação à mosca-das-frutas, o controle microbiano ainda não possui aplicação prática, estando restrito à fase de pesquisa. Segundo Carvalho et al. (2000), poucos trabalhos são encontrados sobre essa linha de pesquisa, sendo os mais comuns referentes ao controle de mosca-das-frutas utilizando fungos (Garcia et al., 1984; Carneiro & Salles, 1994; Carswell et al., 1998; Castillo et al., 2000; Lezana-Gutiérrez et al., 2000; Ekesi et al., 2002; Rosa et al., 2002; Ekesi et al., 2003, Dimbi et al., 2004 Ekesi et al., 2005) e nematóides entomopatogênicos. Os autores consideram que estes agentes são promissores no controle da referida praga, ressaltando, ainda, a necessidade de mais estudos.

Em relação aos demais entomopatógenos, são encontradas citações referentes ao controle da mosca-das-frutas por vírus e bactérias, porém sem perspectiva de aplicação prática (Manousis et al.1981; Fitt & O'Brien, 1985; Howard et al.; 1985; Kuzina et al., 2001).

2.3.1.1 Nematóides entomopatogênicos

2.3.1.1.1 Importância

Nematóides entomopatogênicos pertencentes às famílias Heterorhabditidae e Steinernematidae são considerados excelentes agentes de controle biológico, demonstrando maior potencialidade em insetos-praga de solo e de ambientes crípticos.

Georgis & Hom (1992) ressaltam que cerca de 90% dos insetos-praga passam pelo menos uma fase do seu ciclo de vida no solo, sendo alvo em potencial para os nematóides entomopatogênicos.

Estudos em laboratório e campo demonstraram que estes entomopatogênicos possuem um amplo espectro de hospedeiros, sendo que aproximadamente 17 ordens e 135 famílias de insetos, nos diferentes estágios de desenvolvimento, são suscetíveis aos nematóides entomopatogênicos (Akhurst & Smith, 2002).

Estes entomopatogênicos são ainda seletivos a um grande número de insetos não visados por serem restritos às pragas de solo, apresentam inocuidade ao meio ambiente e aos demais seres vivos, sendo um ótimo recurso a ser utilizado como componente do Manejo Integrado de Pragas (Georgis et al., 2006; Shapiro-Ilan et al., 2006).

Grewal et al. (2001) ressaltam que o desenvolvimento de produtos à base de nematóides ganhou importância nos últimos anos em função de sua seletividade, segurança, facilidade de registro e utilização de equipamentos convencionais para aplicação, além da possibilidade de produção em larga escala.

Na América latina, especialmente no Brasil, Georgis & Hom (1992) destacam o potencial dos nematóides entomopatogênicos pertencentes aos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* para o controle de diversas pragas

agrícolas relacionadas a diversas culturas, tais como citros, milho, cana-de-açúcar e café.

Segundo Grewal et al. (2001), nematóides entomopatogênicos têm sido muito utilizados no controle de pragas na América do Norte, Europa, Ásia e Austrália, e apresentam grande potencial para serem utilizados na América do Sul, especialmente no Brasil, devido à grande produção de frutas e legumes, além da necessidade de métodos de controle de pragas mais seguros e eficientes.

2.3.1.1.2 Aspectos biológicos

Nematóides pertencentes à família Steinernematidae apresentam uma associação simbiótica com bactérias do gênero *Xenorhabdus*, enquanto os representantes da família Heterorhabditidae têm uma associação simbiótica com bactérias do gênero *Photorhabdus* (Boemare, 2002). O conjunto desta associação representa um sistema único de controle biológico de insetos. Nesta relação, os nematóides contribuem oferecendo proteção à bactéria fora do corpo do inseto e atuando como transportadores dela do cadáver de um inseto para a hemocele de um novo hospedeiro. A bactéria, por sua vez, torna os nutrientes do hospedeiro disponíveis para os nematóides (Ferraz, 1998).

Essas bactérias produzem antibióticos que impedem o crescimento de outras bactérias e produzem pigmentos que dão aos cadáveres dos insetos coloração do tegumento característica. Na associação Steinernematidae - *Xenorhabdus*, cadáveres infectados adquirem coloração que varia do bronzeado até pardo escuro. Na associação Heterorhabditidae - *Photorhabdus*, os cadáveres apresentam coloração avermelhada ou alaranjada (Boemare, 2002).

O ciclo de vida dos nematóides entomopatogênicos pertencentes à família Steinernematidae apresenta três fases de desenvolvimento: ovo, juvenil e adulto (fêmeas e machos). A fase juvenil é composta por quatro estádios (J1, J2,

J3 ou JI, J4), sendo o JI (juvenil infectante) o estágio infectante (Adams & Nguyen, 2002).

Inicialmente, os JIs penetram no corpo do inseto pelas aberturas naturais (boca, ânus e espiráculos) e, em seguida, passam à hemocele, onde liberam a bactérias por regurgitação. Estas se multiplicam rapidamente e, após curto período de vida, causam septicemia fatal ao hospedeiro. Subseqüentemente, os JIs se alimentam dos tecidos decompostos pela bactéria e passam para o último estágio juvenil (J4), formando, em seguida, adultos da primeira geração (machos e fêmeas). Os nematóides podem permanecer duas ou três gerações dentro do hospedeiro (ciclo longo) ou, quando o hospedeiro não oferece alimento suficiente, os JIs produzidos na primeira geração emergem do cadáver, completando o ciclo de vida curto. Os JIs, ao emergirem do cadáver, já carregam certa quantidade de bactéria no intestino, e permanecem no solo até a localização e infecção de novos insetos hospedeiros, reiniciando o ciclo (Ferraz, 1998; Adams & Nguyen, 2002).

O ciclo de vida dos nematóides pertencentes à família Heterorhabditidae é semelhante ao ciclo anteriormente explicado, porém com a diferença de que os heterorhabditídeos podem penetrar pelas aberturas naturais (boca, ânus e espiráculos) e pela cutícula, através do rompimento desta. Outra diferença é o fato de que na primeira geração desenvolvem-se somente fêmeas hermafroditas que produzem os demais estádios (ovos, J1, J2, J3 ou JI, J4). A partir da segunda geração no hospedeiro ocorre a formação de machos e fêmeas (Adams & Nguyen, 2002).

2.3.1.1.3 Fatores abióticos que afetam a eficiência dos nematóides entomopatogênicos

Muitos fatores abióticos podem afetar a ocorrência, a persistência, a mobilidade, a infectividade, o tempo de morte do hospedeiro, o desenvolvimento

e a reprodução dos nematóides entomopatogênicos, destacando-se, entre os principais, o clima, a temperatura, a umidade, a radiação ultravioleta, a taxa de oxigenação, o tipo de solo e o pH do solo (Stuart et al., 2006).

Nesta revisão será abordada somente a influência da temperatura e da umidade do solo sobre os nematóides entomopatogênicos.

Diferentes espécies e isolados de nematóides entomopatogênicos apresentam requisitos térmicos distintos, podendo ter sua sobrevivência, reprodução, desenvolvimento e virulência afetados quando expostos à temperatura extrema.

Nesse sentido, vários estudos em condições de laboratório tentam determinar a melhor faixa de temperatura para diferentes espécies e isolados de nematóides entomopatogênicos.

Assim, Long et al. (2000), estudando a influência da temperatura sobre a infectividade de *H. megidis*, *S. feltiae* e *S. kraussei*, verificaram que esta última espécie de nematóide foi a mais tolerante a baixas temperaturas, apresentando maior virulência.

Estudando o efeito da temperatura sobre cinco diferentes isolados de *S. feltiae*, Hazir et al. (2001) verificaram que entre 8 e 28°C ocorreu 100% de infecção e a 30°C não houve infecção, concluindo que estes isolados apresentam tolerância a baixas temperaturas.

El-Sadawy (2001) observou a influência da temperatura na virulência de cinco isolados de *Heterorhabditis* sp., verificando que a 25°C foram mais eficientes que a 35°C.

Em um estudo semelhante, Yul et al. (2002) observaram que *S. carpocapsae* foi patogênico nas temperaturas de 13, 18, 24, 30 e 35°C, sendo que a 24°C apresentou maior virulência.

Ebssa et al. (2003), estudando o efeito da temperatura sobre a infectividade de *H. indica* e *S. bicornutum*, verificaram que o primeiro

nematóide destacou-se em temperaturas altas, enquanto o segundo apresentou melhor desempenho em temperaturas baixas.

Chen et al. (2003) estudaram a suscetibilidade de larvas de *Delia radicum* Linnaeus (Diptera: Anthomyiidae) a várias espécies de nematóides entomopatogênicos em diferentes temperaturas, observando que *S. feltiae* foi mais eficiente a 10°C, *S. carpocapsae*, *S. arenarium* e *H. megidis* foram eficazes entre 15 e 20°C, enquanto *H. bacteriophora* só causou mortalidade a 20°C.

A influência da temperatura na eficácia de nematóides entomopatogênicos foi estudada entre 20 e 35°C. Foi observado que *S. glaseri* e *H. indica* foram infectivos em todas as temperaturas estudadas, sendo 25°C a temperatura ótima para *S. glaseri*, enquanto, para *H. indica*, a temperatura ótima foi entre 30 e 35°C (Subramanian, 2004).

Hussaini et al. (2005) observaram que no intervalo de 25 a 32°C, *S. carpocapsae*, *S. abbasi*, *S. tami* e *H. indica* causaram 100% de mortalidade. Os autores verificaram, ainda, que na temperatura de 8°C não houve infecção e a 18°C houve baixo índice de mortalidade.

Vários estudos também demonstram o efeito da umidade sobre a infectividade e virulência dos nematóides entomopatogênicos em condições de laboratório (Koppenhöfer et al., 1995; Fujii et al., 1996; El-Sadawy, 2001; Alekseev et al. 2006).

De acordo com Grant & Villani (2003b), nematóides entomopatogênicos mantidos em solos com baixa taxa de umidade podem ter sua mobilidade e infectividade inibidas e, quando mantidos em solos secos, podem sofrer dessecação e morte. No entanto, muitos nematóides possuem adaptações fisiológicas e comportamentais que permitem a redução do metabolismo, entrando em estado de anidrobiose, induzido pelas condições limitadas de umidade (Grewal, 2000). Este estado de anidrobiose pode ser revertido por meio da reidratação do solo, recuperando a infectividade e a

virulência do nematóide. Muitos estudos demonstram que após a reidratação do solo houve aumento da virulência dos nematóides (Grant & Villani, 2003, a, b; Ebssa et al., 2004).

Por outro lado, a manutenção de nematóides em solos com alta taxa de umidade também afeta a eficiência dos JIs, pois o fato de todos os poros estarem preenchidos com água reduz a concentração de oxigênio, além de dificultar a localização do hospedeiro pelo nematóide (Gaugler, 1988).

Desta forma, tornam-se necessários estudos que visem identificar a melhor faixa de temperatura e umidade para cada espécie e isolado de nematóides entomopatogênicos, visando o controle de insetos-praga. Além disso, trabalhos com manipulação genética e pressão de seleção para aumentar a tolerância dos nematóides entomopatogênicos a condições extremas são de fundamental importância para o sucesso destes agentes de controle biológico.

2.3.1.1.4 Possibilidades de controle da mosca-das-frutas com nematóides entomopatogênicos

Carvalho et al. (2000) e Grewal et al. (2001) ressaltam que nematóides entomopatogênicos pertencentes aos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* são promissores no controle de mosca-das-frutas, já que o comportamento deste inseto de abandonar o fruto e penetrar no solo para desenvolvimento das pupas permite a ação do nematóide.

Neste sentido, Beavers & Calkins (1984) testaram, em condições de laboratório, a suscetibilidade dos diferentes estágios de desenvolvimento de *Anastrepha suspensa* (Loew) a diversos isolados de nematóides pertencentes aos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis*. Foi verificado que larvas e adultos foram suscetíveis aos nematóides, atingindo um índice de mortalidade máxima de 90,7% e 91,7%, respectivamente. No entanto, a fase de pupa não foi suscetível, apresentando mortalidade máxima de 1,1%.

Lindegren & Vail (1986) avaliaram, em condições de laboratório, a suscetibilidade de larvas de *C. capitata*, *Dacus cucurbitae* (Coquillette) e *D. dorsalis* Hendel a diferentes concentrações de *S. feltiae*, verificando que as três espécies de mosca-das-frutas foram suscetíveis ao entomopatógeno, sendo que, na maior concentração, a mortalidade foi igual a 92, 86 e 85%, respectivamente.

A suscetibilidade de larvas de *C. capitata*, *D. cucurbitae* e *D. dorsalis* também foi observada para *S. carpocapsae* em condições de laboratório, com mortalidade média de 87,1%, e em condições de campo, com mortalidade média de 87,1% (Lindegren, 1990).

Lindegren et al. (1989) observaram, em condições de campo, elevada virulência de *S. feltiae* sobre larvas de *C. capitata*, apresentando CL₅₀ igual a 38 JI/cm².

Grande variabilidade nas taxas de mortalidade de larvas de *C. capitata* foi verificada entre 12 isolados de *Steinernema* e *Heterorhabditis*, sendo que somente dois isolados (*S. riobrave* e *Heterorhabditis* sp.) apresentaram mortalidade superior a 80%, seis mataram mais que 30% e quatro isolados não atingiram mortalidade de 20% (Gazit et al., 2000).

Laborda et al. (2003) estudaram a suscetibilidade de larvas e pupas de *C. capitata* ao produto Biorend C (mistura de *Steinernema* spp. e quitosan, idebio/ABF, Espanha), verificando mortalidade larval superior a 90%, sem efeito sobre a fase de pupa.

A patogenicidade de *S. feltiae*, *S. carpocapsae*, *S. riobrave*, *H. bacteriophora* e *H. marelatus* sobre larvas de *Rhagoletis indifferens* Curran foi verificada em condições de laboratório. A mortalidade causada pelas diferentes espécies de nematóides variou entre 15 e 83,3%, indicando este grupo de entomopatógenos como promissor no controle da mosca-das-frutas (Stark & Lacey, 1999).

Yee & Lacey (2003) também comprovaram a suscetibilidade de *R. indifferens* a *S. carpocapsae*, *S. feltiae* e *S. intermedium*, sendo o estágio larval o mais suscetível, com a mortalidade variando entre 62 e 100%. Os maiores índices de mortalidade foram causados por *S. carpocapsae* e *S. feltiae*.

Maior eficiência de *S. carpocapsae* e *S. feltiae* também foi verificada em um estudo de suscetibilidade de larvas e pupas de *Rhagoletis cerasi* Loew a diferentes espécies e isolados de nematóides entomopatogênicos, com mortalidade variando entre 54 e 70% (Koppler et al., 2003).

Attalla et al. (2002) avaliaram a patogenicidade de *S. carpocapsae*, *S. riobrave* e *H. bacteriophora* sobre larvas no final do último ínstar e pupas de *Bactrocera zonata* (Saunders), verificando variação entre 28,72 e 91,49% na mortalidade de larvas e 16,67 e 93,70% na mortalidade de pupas.

Toledo et al. (2005) avaliaram a eficiência de *H. bacteriophora* sobre larvas de *Anastrepha ludens* (Loew), obtendo CL_{50} de aproximadamente 115 JI/cm² em laboratório. Em condições de campo foi verificada mortalidade igual a 47 e 76% nas concentrações de 115 e 345 JI/cm², respectivamente.

Os trabalhos referidos anteriormente demonstraram a suscetibilidade da mosca-das-frutas aos nematóides entomopatogênicos pertencentes aos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis*, indicando o potencial deste grupo de entomopatôgeno para o controle da praga. No entanto, são necessários mais estudos referentes à seleção de nematóides entomopatogênicos, enfatizando a avaliação de isolados nativos, além de estudos referentes a estratégias de aplicação em campo, visando o desenvolvimento de um controle mais eficiente para mosca-das-frutas e menos prejudicial para o meio ambiente, o produtor e o consumidor.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Criação de *Ceratitis capitata*

A criação e a manutenção de *C. capitata* foram realizadas no Laboratório de Biologia do Departamento de Entomologia de Insetos da Universidade Federal de Lavras – UFLA, em condições controladas de temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas.

Para o início da criação foram utilizadas pupas provenientes do Laboratório de Entomologia do Centro Nacional de Pesquisa de Mandioca e Fruticultura Tropical da Empresa Brasileira de Pesquisa e Agropecuária - Embrapa.

Os adultos foram mantidos em gaiolas de criação com dimensões de 48 cm de comprimento \times 23 cm de largura superior \times 14 cm de largura inferior \times 23 cm de altura, com armação de arame (4 mm de diâmetro). A gaiola foi recoberta com tela plástica (1,5 mm de malha), exceto a parte anterior, que foi revestida com tecido “voil”, na qual as moscas realizavam a postura. Estas gaiolas foram colocadas sobre bandejas plásticas (48 cm \times 25 cm \times 6 cm), mantidas com água destilada para retenção dos ovos (Figura 1A).

A manutenção da criação foi realizada em dias alternados, colocando-se água destilada e dieta líquida (solução de mel de abelha a 10%), ambas fornecidas em chumaços de algodão colocados sobre a tela do teto da gaiola, além de uma dieta sólida adaptada de Carvalho & Nascimento (2002) (Tabela 1), a qual era espalhada em uma folha de papel-toalha dobrada e colocada no interior da gaiola (Figura 2A).

TABELA 1 - Composição da dieta artificial fornecida para adultos de *Ceratitis capitata*.

Componentes	Quantidade
Açúcar mascavo	45,0g
Açúcar comum	68,0g
Levedura de cerveja	9,0g
Sustagen	1,0g
Mel de abelha	15,0mL
Hidrolisado de proteína	45,0mL

Fonte - Carvalho & Nascimento, 2002.

A cada dois dias os ovos foram recolhidos com o auxílio de uma peneira recoberta com tecido “voil” e transferidos para placas de Petri (15 cm de diâmetro) contendo dieta artificial adaptada de Silva (1990) (Tabela 2) para o desenvolvimento das larvas de *C. capitata* (Figura 3A).

TABELA 2 - Composição da dieta artificial fornecida para larvas de *Ceratitis capitata*.

Componentes	Quantidade
Cenoura crua (ralada)	400,0g
Levedura de cerveja	80,0g
Metil Parahidroxibenzoato (Nipagin)	2,5g
Tetraciclina (Tetrex 500)	1 cápsula

Fonte - Silva & Salgado, 1990.

No final do 3º ínstar (em média oito dias) estas placas foram transferidas para bandejas plásticas (48 cm × 25 cm × 6 cm) contendo uma camada de vermiculita e cobertas com tecido “voil” (Figura 4A). Após o período de

desenvolvimento das pupas (aproximadamente 10 dias), esta vermiculita foi peneirada para separação das mesmas, as quais foram transferidas para as gaiolas de adultos.

3.2 Obtenção dos nematóides entomopatogênicos

Para a realização dos bioensaios foram utilizados isolados nativos e exóticos de nematóides entomopatogênicos armazenados no Banco de Patógenos do Laboratório de Patologia de Insetos da Universidade Federal de Lavras - UFLA.

A multiplicação dos nematóides foi realizada através do método *in vivo*, adaptado de Woodring & Kaya (1988), utilizando-se lagartas de último ínstar de *Galleria mellonella* Linnaeus, 1758, provenientes de uma criação estabelecida no mesmo laboratório.

3.2.1 Criação de *Galleria mellonella*

Os adultos foram mantidos em frascos de vidro contendo, em seu interior, papel liso sanfonado para postura. O papel contendo os ovos foi retirado e transferido para potes plásticos forrados com uma folha de papel e dieta artificial adaptada de Dolinski (2005, Comunicação Pessoal) (Tabela 3). As lagartas foram mantidas nestes potes até atingirem a fase de pupa, as quais foram transferidas para os frascos de vidros para emergirem os adultos.

A criação foi mantida em sala climatizada a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$, e a manutenção foi realizada em dias alternados, fazendo-se a limpeza dos recipientes, a coleta de posturas e a reposição da dieta.

TABELA 3 - Composição da dieta artificial fornecida para lagartas de *Galleria mellonella*.

Ingredientes	Quantidade
Farinha de trigo	200 g
Farelo de trigo	200 g
Leite em pó desnatado	400 g
Levedura de cerveja	120 g
Gérmen de trigo	200 g
Mel	240 g
Glicerina	130 g
Água destilada	20 mL

Fonte - Dolinski (2005, Comunicação Pessoal).

3.2.2 Multiplicação e manutenção de nematóides entomopatogênicos

Em uma placa de Petri (9 cm de diâmetro) contendo papel filtro duplo foram transferidas 10 lagartas de *G. mellonella*, padronizadas no 5º instar, e inoculados aproximadamente 20JIs/lagarta (aproximadamente 2 mL de suspensão). Estas placas foram mantidas em câmara climatizada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$, 12 horas de fotofase) e, após 48 horas, as lagartas mortas foram transferidas para câmara seca (Molina & López, 2001) (placa de Petri de 9 cm de diâmetro, contendo papel filtro), na qual permaneceram durante cinco dias, nas mesmas condições citadas anteriormente, para desenvolvimento do nematóide (Figura 5A).

Após este período, as lagartas foram transferidas para armadilha de White modificada (White, 1927), a qual consiste de uma placa de Petri (9 cm de diâmetro) contendo um pedaço de material acrílico fixado no centro da placa, sobre o qual foi colocada uma folha de papel filtro, onde foram depositadas as lagartas mortas e adicionados 3 mL de água destilada (Figura 6A).

O recolhimento dos nematóides foi feito utilizando-se uma proveta de 1000 mL contendo 800 mL de água destilada, sobre a qual foi vertida a água da armadilha de White, lavando-se as lagartas até completar o volume da proveta. Esta suspensão foi mantida na proveta durante 24 horas para decantação e lavagem dos nematóides; após este período o sobrenadante foi descartado e a suspensão de nematóides foi transferida para frascos de Erlenmeyer com capacidade de 250mL, adicionando-se água destilada até completar o volume. Os frascos foram mantidos na aeração em câmara climatizada ($16 \pm 1^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$, no escuro) por um prazo máximo de uma semana, até a montagem dos experimentos.

3.4 Patogenicidade de isolados de *Steinernema* e *Heterorhabditis* sobre larvas e pupas de *C. capitata*

Foi avaliada a patogenicidade de diferentes isolados nativos e exóticos pertencentes aos gêneros *Heterorhabditis* e *Steinernema* sobre larvas e pupas de *C. capitata* (Tabela 4). No estudo da patogenicidade sobre larvas não foi avaliado o isolado *H. bacteriophora* HP88 e, para pupas, não foi avaliado o isolado *H. bacteriophora*, visto que, no período de realização dos bioensaios, não foi possível a multiplicação destes nematóides.

O bioensaio foi realizado segundo o delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições, cada uma constituída de duas placas de Petri contendo 10 indivíduos cada. As larvas utilizadas no bioensaio foram padronizadas no final do 3º ínstar e as pupas com idade entre cinco e oito dias. Os indivíduos foram transferidos para placas de Petri (5 cm de diâmetro) contendo três folhas de papel filtro (Figura 7A, 8A). Foi adicionado, com o auxílio de uma pipeta, 1mL de suspensão de nematóides padronizada na concentração de 200JI/inseto. No tratamento testemunha foi aplicado 1mL de água destilada.

TABELA 4 - Isolados nativos e exóticos de nematóides entomopatogênicos (Rhabditida: Heterorhabditidae e Steinernematidae) utilizados nos bioensaios.

Isolado	Local de origem
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	Desconhecido
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> HP88	New Jersey/USA
<i>Heterorhabditis</i> sp. JPM3	Lavras/MG/Brasil
<i>Heterorhabditis</i> sp. JPM3.1	Lavras/MG/Brasil
<i>Heterorhabditis</i> sp. JPM4	Lavras/MG/Brasil
<i>Heterorhabditis</i> sp. PI	Teresina/Piauí/Brasil
<i>Heterorhabditis</i> sp. RSC01	Benjamin Constant/AM/Brasil
<i>Heterorhabditis</i> sp. RSC02	Benjamin Constant/AM/Brasil
<i>Heterorhabditis</i> sp. RSC03	Benjamin Constant/AM/Brasil
<i>Heterorhabditis amazonensis</i> RSC05	Benjamin Constant/AM/Brasil
<i>Steinernema arenarium</i> (= <i>anomali</i>)	Voronezh/Rússia
<i>Steinernema carpocapsae</i> All	Carolina do Norte/USA
<i>Steinernema feltiae</i> Sn	Flórida/USA
<i>Steinernema glaseri</i> NA	Flórida/USA
<i>Steinernema riobrave</i> 355	Texas/USA

O bioensaio foi mantido em câmara climatizada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, UR $70 \pm 10\%$, 12h de fotofase). A avaliação foi realizada após cinco dias e a confirmação da mortalidade foi realizada através da observação da sintomatologia e da dissecação dos cadáveres.

Os dados foram submetidos à análise de variância (teste F) e as médias, comparadas entre si pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$), utilizando-se o programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2000).

3.5 Efeito de concentrações de isolados de *Steinernema* e *Heterorhabditis* sobre larvas de *C. capitata*

Os isolados que se apresentaram mais virulentos para larvas de *C. capitata* foram selecionados para estudo da concentração e demais bioensaios. Foram preparadas diluições seriadas, padronizadas nas concentrações de 0, 50, 100, 150, 200, 250, 300, 350 e 400JI/inseto. O bioensaio foi realizado utilizando-se o mesmo delineamento e procedimento experimental adotados no bioensaio de patogenicidade.

Os dados foram submetidos à análise de variância (teste F) e as médias, estudadas através da regressão polinomial ($P \leq 0,05$), utilizando-se o programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2000).

3.6 Efeito de *Steinernema* e *Heterorhabditis* aplicados de forma isolada ou combinada sobre larvas de *C. capitata*

Foi avaliada a eficiência de um isolado de *Steinernema* e um isolado de *Heterorhabditis*, previamente selecionados, aplicados de forma isolada ou combinada sobre larvas de *C. capitata*, sendo os tratamentos: *Steinernema*; *Heterorhabditis*; *Steinernema* + *Heterorhabditis* (ambos aplicados logo após a transferência das larvas); *Steinernema* (aplicado logo após a transferência das larvas) + *Heterorhabditis* (aplicado 12 horas após a transferência das larvas); e *Steinernema* (aplicado 12 horas após a transferência das larvas) + *Heterorhabditis* (aplicado logo após a transferência das larvas).

O bioensaio foi realizado segundo o delineamento experimental inteiramente casualizado, com três repetições, contendo 10 larvas cada. Larvas padronizadas no final do terceiro ínstar foram transferidas para potes plásticos (12 cm × 6 cm) contendo 100 g de solo (latossolo com umidade padronizada em 25%) (Figura 9A, 10A) e, em seguida, foram aplicados 3 mL de suspensão do tratamento, padronizada na concentração total de 125JI/cm² (nos tratamentos em

que os nematóides foram aplicados de forma combinada, aplicaram-se 62,5JI/cm² de cada isolado), sendo que, no tratamento testemunha, foram aplicados 3 mL de água destilada.

Os potes plásticos foram tampados e mantidos em câmara climatizada (25 ± 1°C, UR 70 ± 10%, 12h de fotofase). A avaliação foi realizada após cinco dias e a confirmação da mortalidade foi realizada através da observação da sintomatologia e da dissecação dos cadáveres.

Os dados foram submetidos à análise de variância (teste F) e as médias, comparadas entre si pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$), utilizando-se o programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2000).

3.7 Efeito da aplicação do nematóide em diferentes períodos de infestação do solo com larvas de *C. capitata*

Para este bioensaio utilizou-se um isolado de *Steinernema* e um isolado de *Heterorhabditis*, previamente selecionados. Foi avaliado o efeito entre o intervalo de aplicação do nematóide e a infestação do solo com as larvas, sendo os tratamentos: aplicação do nematóide e, em seguida, infestação do solo com as larvas; aplicação do nematóide e, após 24 horas, infestação do solo com as larvas; infestação do solo com as larvas e, 24 horas após, aplicação do nematóide.

O bioensaio foi realizado seguindo o mesmo delineamento e procedimento experimental do bioensaio anterior. Os dados foram submetidos à análise de variância (teste F) e as médias, comparadas entre si pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$), utilizando-se o programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2000).

3.8 Influência da temperatura na eficiência de *Steinernema* e *Heterorhabditis* sobre larvas de *C. capitata*

Foi estudada a eficiência de um isolado de *Steinernema* e um isolado de *Heterorhabditis*, previamente selecionados, sobre larvas de *C. capitata* em cinco diferentes temperaturas, 19, 22, 25, 28 e 31°C. O bioensaio foi realizado seguindo o mesmo procedimento experimental do bioensaio anterior.

Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado, com três repetições, e os tratamentos foram dispostos em um esquema fatorial 2 × 5 (dois nematóides e cinco temperaturas). Os dados foram submetidos à análise de variância (teste F) e as médias, comparadas entre si pelo teste de Scott-Knott ou estudadas através da regressão polinomial ($P \leq 0,05$), utilizando-se o programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2000).

3.9 Influência da umidade do solo na eficiência de *Steinernema* e *Heterorhabditis* sobre larvas de *C. capitata*

Foi estudada a eficiência de um isolado de *Steinernema* e um isolado de *Heterorhabditis*, previamente selecionados, sobre larvas de *C. capitata* em três diferentes umidades, 100, 75 e 50% da capacidade campo do solo utilizado no bioensaio (latossolo).

Inicialmente o solo utilizado no bioensaio foi colocado para secagem durante sete dias, em casa-de-vegetação. Uma amostra deste solo foi enviada para o Laboratório de Física do Solo do Departamento de Ciências do Solo da Universidade Federal de Lavras - UFLA, para a determinação da capacidade de campo e da umidade. Com base na capacidade de campo previamente determinada foi adicionada água destilada, ajustando-se a umidade do solo em 50, 75 e 100% da capacidade de campo.

O bioensaio foi realizado seguindo o mesmo procedimento experimental do bioensaio anterior. Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente

casualizado, com três repetições, e os tratamentos foram dispostos em um esquema fatorial 2×3 (dois nematóides e três umidades). Os dados foram submetidos à análise de variância (teste F) e as médias, comparadas entre si pelo teste de Scott-Knott ($P \leq 0,05$), utilizando-se o programa estatístico Sisvar (Ferreira, 2000).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Patogenicidade de isolados de *Steinernema* e *Heterorhabditis* sobre larvas e pupas de *C. capitata*

4.1.1 Larvas

Larvas de *C. capitata* foram suscetíveis a todos os isolados e espécies de nematóides entomopatogênicos estudados, com mortalidade variando entre 32,5 e 87,5% (Tabela 5). Dentre os 14 isolados avaliados, apenas dois causaram mortalidade inferior a 41%, 10 causaram um índice de mortalidade que variou entre 46 e 63% e dois causaram mortalidade superior a 86%, sendo eles *S. carpocapsae* (Figura 11A, 15A) e *Heterorhabditis* sp. RSC01 (Figura 12A).

A elevada eficiência de *S. carpocapsae* contra larvas de *C. capitata* pode estar relacionada ao tamanho relativamente reduzido dos juvenis infectantes, que varia entre 438 e 650 µm (Adams & Nguyen, 2002), o que facilita o modo de penetração dos steinernematóides, que ocorre através das aberturas naturais do hospedeiro (espiráculos, boca e ânus).

Em relação ao isolado *Heterorhabditis* sp. RSC01 são necessários, ainda, estudos de identificação, não sendo possível realizar comparações referentes aos aspectos morfológicos e comportamentais deste nematóide.

No entanto, a especificidade de um entomopatógeno ao hospedeiro não pode ser explicada com base em apenas uma característica, já que um complexo de fatores atua nesta relação. Assim, a especificidade está diretamente ligada à eficiência que o entomopatógeno apresenta para localizar, infectar, desenvolver e se reproduzir sem que seja reconhecido pelo sistema imunológico do hospedeiro.

Processos co-evolutivos podem determinar a especificidade de um entomopatógeno com seu hospedeiro, proporcionando o desenvolvimento de mecanismos de reconhecimento do hospedeiro através da percepção química ou desenvolvimento de estruturas físicas específicas que auxiliam no processo de infecção (Tol et al., 2001).

TABELA 5 - Mortalidade confirmada (\pm EP) de larvas de *Ceratitis capitata* por nematóides entomopatogênicos (Rhabditida: Heterorhabditidae e Steinernematidae).

Espécies/ Isolados	Mortalidade confirmada (%) ¹
Testemunha	0,0 \pm 0,00 d
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i>	63,8 \pm 6,25 b
<i>Heterorhabditis</i> sp. PI	55,0 \pm 6,45 b
<i>Heterorhabditis</i> sp. JPM3	48,8 \pm 3,15 b
<i>Heterorhabditis</i> sp. JPM3.1	56,3 \pm 5,15 b
<i>Heterorhabditis</i> sp. JPM4	40,0 \pm 2,89 c
<i>Heterorhabditis</i> sp. RSC01	87,5 \pm 4,33 a
<i>Heterorhabditis</i> sp. RSC02	58,8 \pm 7,74 b
<i>Heterorhabditis</i> sp. RSC03	46,3 \pm 8,00 b
<i>Heterorhabditis amazonensis</i> RSC05	53,8 \pm 6,25 b
<i>Steinernema anomali</i>	63,8 \pm 4,27 b
<i>Steinernema carpocapsae</i>	86,3 \pm 3,75 a
<i>Steinernema feltiae</i>	51,3 \pm 7,18 b
<i>Steinernema glaseri</i>	61,3 \pm 5,91 b
<i>Steinernema riobrave</i>	32,5 \pm 4,33 c
CV = 20,29%	

¹Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ($P \leq 0,05$).

Verificou-se que a maioria das larvas de *C. capitata* expostas ao nematóide morreu na fase de pupa. Este fato também foi observado por

Lindegren & Vail (1986) estudando a suscetibilidade de larvas de *C. capitata*, *D. cucurbitae* e *D. dorsalis* ao entomopatógeno, e por Stark & Lacey (1999) e Yee & Lacey (2003) estudando a patogenicidade de nematóides sobre larvas de *R. indifferens*.

Não houve destaque entre os gêneros estudados, visto que um isolado pertencente ao gênero *Heterorhabditis* (RSC01) e um isolado pertencente ao gênero *Steinernema* (*S. carpocapsae*) foram os mais virulentos para larvas de *C. capitata*. Além disso, os menores índices de mortalidade também foram causados por um isolado pertencente ao gênero *Heterorhabditis* (JPM4) e um isolado pertencente ao gênero *Steinernema* (*S. riobrave*). Também não houve relação entre isolados nativos ou exóticos e a eficiência do entomopatógeno, já que *Heterorhabditis* sp. RSC01 e *Heterorhabditis* sp. JPM4 são nativos, enquanto *S. carpocapsae* e *S. riobrave* são exóticos.

Houve grande variabilidade na suscetibilidade de larvas de *C. capitata* às diferentes espécies e isolados testados, reforçando a necessidade de estudos de seleção.

Grande variabilidade nas taxas de mortalidade de larvas de *C. capitata* também foi verificada por Gazit et al. (2000) estudando a patogenicidade de diferentes isolados pertencentes aos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis*. Dentre os nematóides avaliados, *S. riobrave* foi um dos que apresentou maior índice de mortalidade, superior a 80%. Este trabalho discorda dos resultados aqui encontrados, visto que esta espécie foi uma das menos eficientes. Esta divergência provavelmente está relacionada à grande variabilidade genética existente entre os isolados de uma mesma espécie de nematóide. Vários estudos demonstraram variabilidade na morfologia (Poinar, 1992; Stock et al., 2000), genética (Gaugler et al., 1989), fisiologia (Jagdale & Gordon, 1997; Fitters et al., 1999), infectividade (Griffin & Downes, 1991) e adaptação climática (Solomon et al., 1999) de diferentes isolados pertencentes a uma mesma espécie.

Estudos realizados por Lindegren (1990) apresentaram resultados semelhantes aos aqui obtidos, com *S. carpocapsae* causando mortalidade superior a 90% em condições de laboratório e acima de 85% em condições de campo para larvas de *C. capitata*.

A suscetibilidade de larvas de *C. capitata* a *S. feltiae* também já foi observada por Lindegren & Vail (1986) em condições de laboratório e por Lindegren et al. (1989) em condições de campo.

Larvas de *C. capitata* também já tiveram sua suscetibilidade comprovada ao produto à base de nematóide entomopatogênico Biorend C (mistura de *Steinernema spp.* e quitosan, idebio/ABF, Espanha), o qual causou um índice de mortalidade superior a 90% (Laborda et al., 2003).

Estudos em condições de laboratório e campo também demonstraram a patogenicidade de diferentes isolados e espécies de *Steinernema* e *Heterorhabditis* sobre larvas de *Anastrepha suspensa* (Beavers & Calkins, 1984), *A. ludens* (Toledo et al.; 2005, Toledo et al., 2006), *Bactrocera zonata* (Attalla et al., 2002), *Dacus curcubitae* e *D. dorsalis* (Lindegren, 1990), *Rhagoletis indifferens* (Stark & Lacey, 1999; Yee & Lacey, 2003) e *R. cerasi* (Koppler et al., 2003).

4.1.2 Pupas

Houve grande variabilidade na mortalidade de pupas causada pelos diferentes isolados e espécies de nematóides entomopatogênicos, variando entre 3,8 e 43,8% (Tabela 6). Dentre os 14 isolados avaliados, apenas três causaram mortalidade inferior a 7,5%, seis causaram um índice de mortalidade que variou entre 13 e 21% e cinco causaram mortalidade superior a 35%.

TABELA 6 - Mortalidade confirmada (\pm EP) de pupas de *Ceratitis capitata* por nematóides entomopatogênicos (Rhabditida: Heterorhabditidae e Steinernematidae).

Espécies/ Isolados	Mortalidade confirmada (%) ¹
Testemunha	0,0 \pm 0,00 c
<i>Heterorhabditis bacteriophora</i> HP88	35,0 \pm 6,12 a
<i>Heterorhabditis</i> sp. PI	43,8 \pm 11,25 a
<i>Heterorhabditis</i> sp. JPM3	7,5 \pm 5,95 c
<i>Heterorhabditis</i> sp. JPM3.1	13,8 \pm 7,18 b
<i>Heterorhabditis</i> sp. JPM4	41,3 \pm 7,74 a
<i>Heterorhabditis</i> sp. RSC01	21,3 \pm 5,15 b
<i>Heterorhabditis</i> sp. RSC02	3,8 \pm 2,39 c
<i>Heterorhabditis</i> sp. RSC03	7,5 \pm 4,33 c
<i>Heterorhabditis amazonensis</i> RSC05	13,8 \pm 5,54 b
<i>Steinernema anomali</i>	21,3 \pm 10,08 b
<i>Steinernema carpocapsae</i>	20,0 \pm 6,45 b
<i>Steinernema feltiae</i>	41,2 \pm 9,66 a
<i>Steinernema glaseri</i>	43,8 \pm 10,48 a
<i>Steinernema riobrave</i>	17,5 \pm 9,24 b
CV = 48,82%	

¹Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ($P \leq 0,05$).

Da mesma forma como verificado para larvas, não houve destaque entre os gêneros estudados sobre pupas de *C. capitata*, visto que os isolados que causaram os maiores índices de mortalidade pertencem a *Steinernema* (*S. feltiae* e *S. glaseri*) (Figura 13A, 16A) e a *Heterorhabditis* (*H. bacteriophora* HP88, PI e JPM4) (Figura 14A). No entanto, os menores índices de mortalidade foram causados apenas por isolados pertencentes ao gênero *Heterorhabditis* (JPM3, RSC02 e RSC03).

Dentre os isolados que se destacaram encontra-se um nativo (*Heterorhabditis* sp. JPM4) e quatro exóticos (*H. bacteriophora* HP88, *Heterorhabditis* sp. PI, *S. feltiae* e *S. glaseri*), enquanto que entre os isolados menos eficientes, todos são nativos (*Heterorhabditis* sp. JPM3, *Heterorhabditis* sp. RSC01 e *Heterorhabditis* sp. RSC03).

Attalla et al (2002) também observaram grande variabilidade na mortalidade de pupas de *B. zonata* quando expostas a diferentes isolados de *S. carpocapsae*, *S. riobrave* e *H. bacteriophora*, com o índice de mortalidade variando entre 16,67 e 93,70%, sendo a fase de pupa tão suscetível aos isolados testados quanto a fase de larva, que apresentou mortalidade máxima de 91,49%. Este fato não foi observado no presente trabalho, visto que a mortalidade máxima obtida para a fase de pupa foi de 43,8%, enquanto, para a fase larval, foi de 87,5%.

Trabalhos realizados com *A. suspensa*, *R. indifferens* e *C. capitata* também demonstraram baixa suscetibilidade da fase de pupa a diferentes isolados e espécies pertencentes aos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* (Beavers & Calkins, 1984; Laborda et al. 2003; Yee & Lacey, 2003)

Segundo Yee & Lacey (2003), os fatores que causam diferenças na suscetibilidade dos diferentes estágios do inseto e a na eficiência dos diferentes isolados e espécies de nematóide precisam ser determinados. Nesse sentido, várias hipóteses tentam explicar estas diferenças.

Assim, a grande suscetibilidade de larvas aos nematóides entomopatogênicos pode estar relacionada à grande locomoção desta fase, com maior liberação de CO₂, composto químico responsável por atrair o nematóide entomopatogênico. Além disso, as grandes aberturas naturais do corpo da larva, no caso de *Steinernema* e *Heterorhabditis*, e o tegumento pouco esclerotizado (quando comparado à fase de pupa), no caso de *Heterorhabditis*, facilitam a infecção do inseto pelo nematóide.

Já a baixa suscetibilidade das pupas pode estar relacionada às aberturas dos espiráculos, que podem ser muito pequenas para penetração do nematóide, ou ainda como consequência da pupa estar protegida pelo pupário, dificultando a penetração do mesmo (Toledo et al., 2005).

A alta virulência de *H. bacteriophora*, *S. glaseri* e *S. feltiae* para pupas de *C. capitata* pode estar relacionada à estratégia que estes entomopatógenos utilizam para encontrar o hospedeiro, visto que os dois primeiros são estrategistas *Cruiser* e o último é um estrategista intermediário entre *Cruiser* e *Ambusher*. Em relação aos isolados *Heterorhabditis* sp. PI e *Heterorhabditis* sp. JPM4, ainda são necessários estudos de identificação, não sendo possível fazer comparações referentes aos aspectos morfológicos e comportamentais.

Nesse sentido, Lewis et al. (2006) ressaltam que nematóides estrategistas *Cruiser* (se locomovem em busca do hospedeiro) apresentam maior probabilidade de encontrar hospedeiros que possuem hábitos crípticos ou sedentários, enquanto estrategistas *Ambusher* (ficam à espreita do hospedeiro até o momento em que este se aproxima para realizar o ataque) são mais efetivos para encontrar hospedeiros com alta mobilidade.

Provavelmente *S. carpocapsae*, que foi altamente virulento para larvas de *C. capitata*, demonstrou-se pouco eficiente para a fase de pupa por ser um estrategista *Ambusher*, dificultando o encontro entre a pupa (sedentária) e o os juvenis infectantes.

Devido à baixa suscetibilidade apresentada pela fase de pupa aos nematóides entomopatogênicos, os demais experimentos foram conduzidos somente com a fase larval.

4.3 Estudo de concentração de isolados de nematóides entomopatogênicos pertencentes aos gêneros *Steinernema* e *Heterorhabditis* sobre larvas de *C. capitata*

Verificou-se que tanto *S. carpocapsae* como *Heterorhabditis* sp. RSC01 causaram mortalidade em larvas de *C. capitata* em todas as concentrações aplicadas, exceto no tratamento controle. A mortalidade de larvas de *C. capitata* causada por *S. carpocapsae* variou entre 57,5 e 96,3%, e para *Heterorhabditis* sp. RSC01, entre 37,8 e 67,5% (Figura 6).

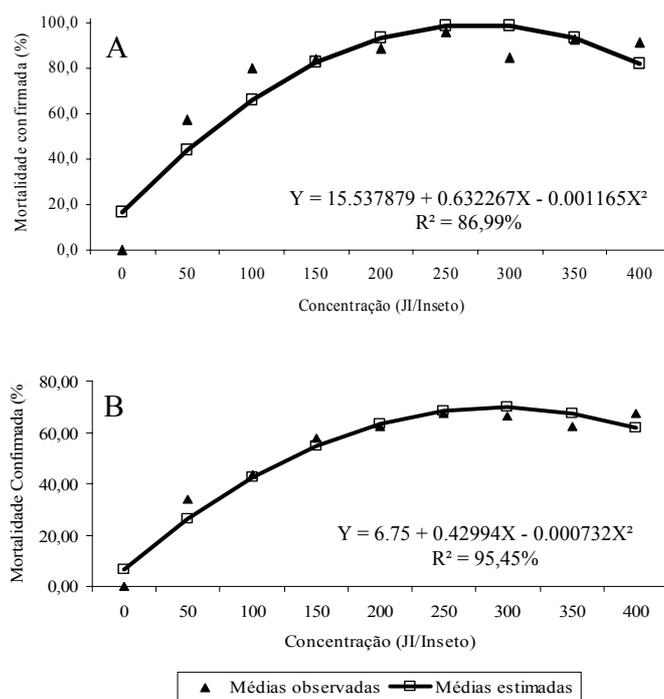


FIGURA 6 - Análise de regressão para mortalidade confirmada de larvas de *Ceratitis capitata* submetidas a diferentes concentrações de (A) *Steinernema carpocapsae* e (B) *Heterorhabditis* sp. RSC01.

Para ambos os nematóides, observou-se que a mortalidade foi diretamente proporcional ao aumento da concentração até um ponto máximo, no qual a mortalidade passou a decrescer com o aumento da concentração.

Observando a curva de mortalidade de larvas de *C. capitata* causada por *S. carpocapsae*, verifica-se um ponto máximo de mortalidade de 99,49% sob uma concentração de 274JI/inseto ou 137JI/cm², enquanto, para *Heterorhabditis* sp. RSC01, o ponto máximo foi de 69,88%, sob uma concentração de 293JI/inseto ou 147JI/cm².

Segundo Gaugler et al. (1994), quando um hospedeiro é infectado por nematóides entomopatogênicos é necessário um número mínimo de JI para superar o sistema imunológico do hospedeiro e colonizá-lo, causando sua mortalidade. No entanto, quando este número de JI é extrapolado, ocorre competição intra-específica, comprometendo a sobrevivência, o desenvolvimento e a reprodução dos nematóides, reduzindo a virulência dos mesmos (Selvan et al., 1993).

4.4 Efeito de *Steinernema* e *Heterorhabditis* aplicados de forma isolada ou combinada sobre larvas de *C. capitata*

Verificou-se que *S. carpocapsae* e *Heterorhabditis* sp. RSC01 foram eficientes no controle de larvas de *C. capitata* quando aplicados na superfície do solo, de forma isolada ou combinada, com o índice de mortalidade variando entre 26,7 e 74,5% (Tabela 7).

Quando aplicado de forma isolada, *S. carpocapsae* foi mais eficiente que *Heterorhabditis* sp. RSC01, com mortalidades de 74,5 e 41,3%, respectivamente.

TABELA 7 - Mortalidade confirmada (\pm EP) de larvas de *Ceratitis capitata* por *Steinernema carpocapsae* e *Heterorhabditis* sp. RSC01 de forma isolada ou combinada em diferentes períodos de aplicação dos nematóides em relação à liberação do inseto.

Tratamento	Mortalidade confirmada (%) ¹
Testemunha	0,0 \pm 0,00 d
<i>S. carpocapsae</i>	74,5 \pm 9,85 a
RSC01	41,3 \pm 5,32 b
<i>S. carpocapsae</i> (1h) + RSC01 (1h)	66,7 \pm 8,82 a
<i>S. carpocapsae</i> (1h) + RSC01 (12h)	66,7 \pm 3,33 a
<i>S. carpocapsae</i> (12h) + RSC01 (1h)	26,7 \pm 8,82 c
CV = 26,41%	

¹Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ($P \leq 0,05$).

Quando aplicados de forma combinada, o tratamento em que ambos os isolados foram aplicados na primeira hora e o tratamento em que *S. carpocapsae* foi aplicado na primeira hora e *Heterorhabditis* sp. RSC01, após 12 horas, apresentaram a mesma eficiência, com 66,7% de mortalidade. Já no tratamento em que *Heterorhabditis* sp. RSC01 foi aplicado na primeira hora e *S. carpocapsae*, aplicado após 12 horas, ocorreu o menor índice de mortalidade (26,7%).

Comparando os efeitos da aplicação isolada de *S. carpocapsae* e da aplicação combinada com *Heterorhabditis* sp. RSC01, verificou-se que não houve aumento da virulência de *S. carpocapsae*, ocorrendo redução neste parâmetro quando aplicado 12 horas após a aplicação de *Heterorhabditis* sp. RSC01.

Provavelmente, quando *S. carpocapsae* foi inoculado após 12 horas, as larvas de *C. capitata* já haviam passado para a fase de pupa, dificultando o processo de infecção e, conseqüentemente, reduzindo a taxa de mortalidade neste tratamento.

Por outro lado, ao se comparar a eficiência de *Heterorhabditis* sp. RSC01 aplicado isoladamente com a aplicação de forma combinada com *S. carpocapsae*, verificou-se um aumento na sua virulência quando aplicado juntamente com *S. carpocapsae* na primeira hora ou quando aplicado 12 horas após a aplicação de *S. carpocapsae*.

Nos tratamentos em que os nematóides foram aplicados de forma combinada, não foi possível a identificação (através da sintomatologia) do isolado que causou a mortalidade do inseto, pois todas as larvas e pupas apresentaram coloração escura, sendo possível somente a confirmação da mortalidade por nematóide entomopatogênico.

Em um estudo semelhante, Alatorre-Rosas & Kaya (1991) observaram o efeito de aplicação de forma combinada de *S. carpocapsae* e *H. bacteriophora*, verificando que *S. carpocapsae* infectou e se reproduziu com mais sucesso que *H. bacteriophora*. No entanto, quando *S. carpocapsae* foi aplicado de forma combinada com *S. glaseri*, teve a produção de JI reduzida (Kondo, 1989).

Segundo Alatorre-Rosas & Kaya (1991), ao se aplicarem duas espécies de nematóides de forma combinada pode ocorrer competição dentro do hospedeiro, prejudicando o desenvolvimento de uma delas. Esta competição pode ocorrer também entre as bactérias que vivem em simbiose com os nematóides. Nesse sentido, Boemare (2002) ressalta que bactérias pertencentes ao gênero *Xenorhabdus* são conhecidas por produzir bacteriocinas letais para o gênero *Photorhabdus*.

4.5 Efeito da aplicação do nematóide em diferentes intervalos de infestação do solo com larvas de *C. capitata*

Foi observada elevada suscetibilidade de *C. capitata* a *S. carpocapsae* e *Heterorhabditis* sp. RSC01 nos diferentes intervalos de infestação do solo com larvas e aplicação do nematóide, causando um índice de mortalidade que variou entre 60 e 90% (Tabela 8).

TABELA 8 - Mortalidade confirmada (\pm EP) de larvas de *Ceratitis capitata* por *Steinernema carpocapsae* e *Heterorhabditis* sp. RSC01 em diferentes períodos de aplicação do nematóide em relação à liberação do inseto.

Tratamento	Mortalidade confirmada (%) ¹
Testemunha	0,0 \pm 0,00 c
<i>S. carpocapsae</i> (1h) + Larva (1h)	80,0 \pm 5,77 a
<i>S. carpocapsae</i> (1h) + Larva (24h)	90,0 \pm 5,77 a
<i>S. carpocapsae</i> (24h) + Larva (1h)	63,3 \pm 3,33 b
RSC01 (1h) + Larva (1h)	60,0 \pm 5,77 b
RSC01 (1h) + Larva (24h)	90,0 \pm 5,77 a
RSC01 (24h) + Larva (1h)	73,3 \pm 3,33 b
CV = 14,96%	

¹Médias seguidas da mesma letra não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ($P \leq 0,05$).

A maior eficiência de *S. carpocapsae* foi verificada nos tratamentos inoculados com larvas no momento da infestação do solo e 24 horas antes da infestação do solo.

Esta elevada virulência pode estar relacionada ao comportamento de *S. carpocapsae* de se movimentar verticalmente, mantendo-se na superfície do solo (Yee & Lacey, 2003), o que facilitou a infecção das larvas quando o solo foi infestado no momento ou após 24 horas da aplicação do nematóide. Além disso, neste período de exposição, o nematóide pôde infectar *C. capitata* ainda

na fase de larva, a qual é mais suscetível ao entomopatígeno quando comparada à fase de pupa.

Dados semelhantes ao do presente trabalho foram obtidos por Yee & Lacey (2003) estudando a suscetibilidade de *R. indifferens* a nematóides entomopatogênicos, verificando elevada virulência de *S. carpocapsae* quando inoculado junto com as larvas ou quando inoculado 48 horas antes da infestação do solo com as larvas, com mortalidades iguais a 90 e 92%, respectivamente.

Por outro lado, o tratamento em que *S. carpocapsae* foi inoculado 24 horas após a infestação do solo com as larvas foi menos eficiente, pois provavelmente as larvas já haviam passado para a fase de pupa, tornando-se menos suscetível ao entomopatígeno.

Já o isolado *Heterorhabditis* sp. RSC01 apresentou maior virulência somente no tratamento em que foi inoculado 24 horas antes da infestação do solo com as larvas. Esta menor virulência do *Heterorhabditis* sp. RSC01, quando comparado a *S. carpocapsae* sobre larvas de *C. capitata*, deve estar relacionada a aspectos morfológicos, fisiológicos, genéticos e comportamentais do próprio isolado, os quais ainda precisam ser estudados.

4.6 Influência da temperatura na eficiência de *Steinernema* e *Heterorhabditis* sobre larvas de *C. capitata*

Verificou-se que *S. carpocapsae* e *Heterorhabditis* sp. RSC01 causaram mortalidade em larvas de *C. capitata* em todas as temperaturas estudadas, havendo influência deste fator sobre a eficiência dos nematóides. Houve relação diretamente proporcional entre a virulência do entomopatígeno e o aumento da temperatura, com mortalidades máximas de 86,7 e 80,0% para *S. carpocapsae* e *Heterorhabditis* sp. RSC01, respectivamente, a 31°C (Figura 7).

Não houve diferenças entre os dois nematóides dentro de cada temperatura, exceto a 25°C, em que *S. carpocapsae* foi mais eficiente que

Heterorhabditis sp. RSC01, com 80,0 e 43,3% de mortalidade, respectivamente (Tabela 9).

Estes resultados demonstram que ambos os isolados apresentam adaptação a temperaturas mais elevadas, indicando a possibilidade de utilização deste entomopatógeno para controle de insetos-praga de ocorrência em regiões de clima tropical.

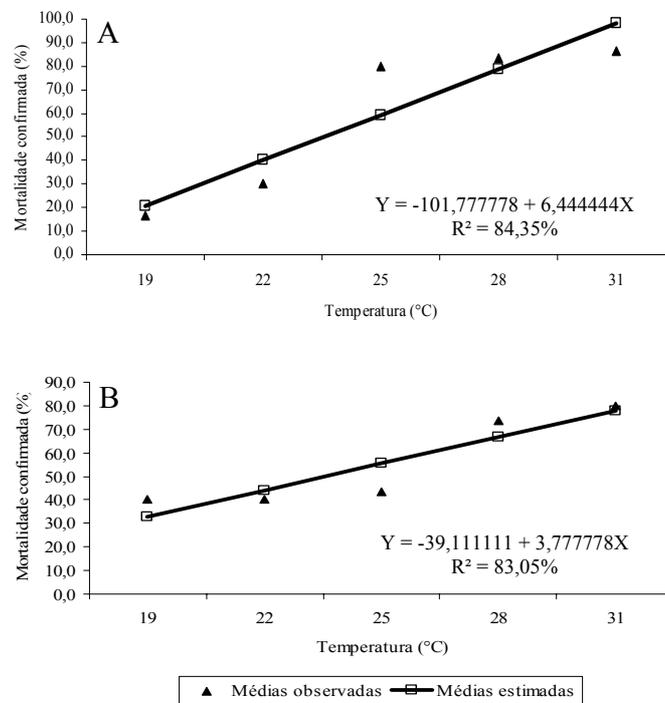


FIGURA 7 - Porcentagem média de mortalidade confirmada de larvas de *Ceratitidis capitata* inoculadas com (A) *Steinernema carpocapsae* e (B) *Heterorhabditis* sp. RSC01, mantidas em diferentes temperaturas do solo.

Vários estudos demonstram a influência da temperatura sobre a infectividade dos nematóides entomopatogênicos (Longe t al., 2000; El-Sadawy, 2001; Hazir et al., 2001; Ebssa et al., 2003; Subramanian, 2004). Nesse sentido, muitos trabalhos confirmam que *S. carpocapsae* mantém sua virulência em temperaturas elevadas. Em relação ao isolado *Heterorhabditis* sp. RSC01 são ainda necessários estudos para descrição do seu comportamento e ecologia.

TABELA 9 - Mortalidade confirmada (\pm EP) de larvas de *Ceratitis capitata* inoculadas com *Steinernema carpocapsae* e *Heterorhabditis* sp. RSC01, mantidas em diferentes temperaturas do solo.

Temperatura (°C)	Mortalidade confirmada (%) ¹	
	<i>S. carpocapsae</i>	RSC01
19	16,7 \pm 3,33 A	40,0 \pm 15,27 A
22	30,0 \pm 10,00 A	40,0 \pm 5,77 A
25	80,0 \pm 10,00 A	43,3 \pm 6,67 B
28	83,3 \pm 8,82 A	73,3 \pm 6,67 A
31	86,7 \pm 6,67 A	80,0 \pm 10,00 A

CV = 26,83%

¹Médias seguidas da mesma letra na linha não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ($P \leq 0,05$).

Em um estudo semelhante, Yul et al. (2002) verificaram que *S. carpocapsae* foi patogênico a lagartas de *G. mellonella* nas temperaturas de 13, 18, 24, 30 e 35°C, sendo que a 24°C houve maior índice de mortalidade.

Chen et al. (2003), estudando a suscetibilidade de larvas de *Delia radicum* Linnaeus (Diptera: Anthomyiidae) a *S. carpocapsae* nas temperaturas de 10, 15 e 20°C, verificaram maior eficiência do entomopatógeno nas temperaturas mais elevadas.

Hussaini et al. (2005) observaram que entre 25 e 32°C, *S. carpocapsae* causou 100% de mortalidade em lagartas de *G. mellonella* e *Agrotis ipsilon* (Hufnagel) (Lepidoptera: Noctuidae), sendo que, nas temperaturas mais baixas (8 e 18°C), não houve infecção ou houve baixo índice de mortalidade, respectivamente.

4.7 Influência da umidade do solo na eficiência de *Steinernema* sp. e *Heterorhabditis* sp. sobre larvas de *C. capitata*

A capacidade de campo das amostras de solo utilizadas no experimento foi determinada em 33,41% de umidade. Assim, no tratamento de 100% da capacidade de campo, a umidade do solo foi padronizada em 33,41%; no tratamento de 75%, em 25,04%; e no tratamento de 50%, 16,71% .

Verificou-se que *S. carpocapsae* e *Heterorhabditis* sp. RSC01 causaram mortalidade em todas as porcentagens de umidade estudadas, havendo influência deste fator sobre a virulência dos nematóides (Tabela 10).

TABELA 10 - Mortalidade confirmada (\pm EP) de larvas de *Ceratitis capitata* inoculadas com *Steinernema carpocapsae* e *Heterorhabditis* sp. RSC01, mantidas em diferentes porcentagens de umidade do solo.

Umidade	Mortalidade confirmada (%) ¹	
	<i>S. carpocapsae</i>	RSC01
100% da capacidade de campo	13,3 \pm 3,33 Ab	20,0 \pm 0,00 Aa
75% da capacidade de campo	96,7 \pm 3,33 Aa	26,7 \pm 3,33 Ba
50% da capacidade de campo	16,7 \pm 6,67 Ab	10,0 \pm 0,00 Ab

CV = 20,41%

¹Médias seguidas da mesma letra minúscula na mesma coluna e da mesma letra maiúscula na mesma linha não diferem entre si pelo teste Scott-Knott ($P \leq 0,05$).

S. carpocapsae apresentou maior virulência no tratamento de 75% da capacidade de campo, causando 96,7% de mortalidade. Nos demais tratamentos, *S. carpocapsae* demonstrou-se pouco eficiente. *Heterorhabditis* sp. RSC01 foi mais eficiente nos tratamentos de 100 e 75% da capacidade de campo, causando 20,0 e 26,7% de mortalidade, respectivamente.

Comparando-se a eficiência dos dois nematóides dentro de cada porcentagem de umidade, verificou-se que *S. carpocapsae* destacou-se no tratamento de 75% da capacidade de campo, com 96,7% de mortalidade, enquanto *Heterorhabditis* sp. RSC01 causou somente 26,7% de mortalidade. Nos demais tratamentos os dois nematóides apresentaram a mesma eficiência.

Vários trabalhos revelam a influência da umidade do solo sobre a virulência dos nematóides entomopatogênicos, demonstrando, de maneira geral, queda na virulência de acordo com a redução da umidade do solo (El-Sadawy, 2001; Grant & Villani, 2003, a, b; Ebssa et al., 2004; Alekseev et al., 2006).

A baixa virulência de *S. carpocapsae* na maior taxa de umidade pode ser explicada pelo fato de que o preenchimento completo dos poros com água impede a locomoção do nematóide, dificultando o encontro com o hospedeiro. Por outro lado, a baixa virulência de ambos os nematóides na menor taxa de umidade provavelmente está relacionada à ausência de água entre os poros, o que também limita a locomoção do nematóide.

Segundo Glazer (2002), para ótima locomoção e sobrevivência dos nematóides entomopatogênicos é necessária uma película de água livre entre as partículas do solo, condição que não ocorre em situações extremas de umidade.

Outra possibilidade para a baixa virulência de ambos os nematóides na menor taxa de umidade é que muitos nematóides, quando expostos a condições de umidade limitada, possuem adaptações fisiológicas e comportamentais que

permitem a redução do metabolismo, entrando em estado de anidrobiose (Grewal, 2000; Glazer, 2002).

Este estado de anidrobiose pode ser revertido através da reidratação do solo, recuperando-se a infectividade e virulência do nematóide. Muitos trabalhos demonstram que após a reidratação do solo houve aumento da virulência dos nematóides entomopatogênicos (Grant & Villani, 2003, a, b; Ebssa et al., 2004).

5 CONCLUSÕES

1. Todas as espécies e isolados de nematóides entomopatogênicos testados são patogênicos às fases de larva e pupa de *C. capitata*.
2. A fase larval de *C. capitata* é mais suscetível aos nematóides entomopatogênicos.
3. Os isolados *S. carpocapsae* e *Heterorhabditis* sp. RSC01 são os mais virulentos para a fase larval de *C. capitata*.
4. Os isolados *H. bacteriophora* HP88, *Heterorhabditis* sp. PI, *Heterorhabditis* sp. JPM4, *S. feltiae* e *S. glaseri* são os mais virulentos para a fase de pupa de *C. capitata*.
5. A aplicação conjunta de *S. carpocapsae* e *Heterorhabditis* sp. RSC01, visando o controle de larvas de *C. capitata*, reduz a eficiência de *S. carpocapsae* e aumenta a eficiência de *Heterorhabditis* sp. RSC01.
6. Independentemente do período de infestação do solo com larvas de *C. capitata*, *S. carpocapsae* e *Heterorhabditis* sp. RSC01 apresentam elevada virulência.
7. A virulência de *S. carpocapsae* e *Heterorhabditis* sp. RSC01 é diretamente proporcional ao aumento da temperatura entre 19 e 31°C.
8. A umidade do solo influencia na virulência de *S. carpocapsae* e *Heterorhabditis* sp. RSC01, sendo que taxas de umidade extremas reduzem a virulência destes isolados.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, B. J.; NGUYEN, K. B. Taxonomy and systematics. In: GAUGLER, R. **Entomopathogenic nematology**, Wallingford: CABI Publishing, 2002. p. 1-28.

AKHURST, R. J.; SMITH, K. Regulation and safety. In: GAUGLER, R. **Entomopathogenic nematology**, Wallingford: CABI Publishing, 2002. p. 311-332.

ALATORRE-ROSAS, R.; KAYA, H. K. Interactions between two entomopathogenic nematode species in the same host. **Journal Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 57, p. 1-6, Jan. 1991.

ALEKSEEV, E.; GLAZER, I.; MICHAEL, S. Effects of soil texture and moisture on the activity of entomopathogenic nematodes against female *Boophilus annulatus* ticks. **BioControl**, Dordrecht, v. 51, n. 4, p. 507-518, Aug. 2006.

ALVES, S. B. Patologia e controle microbiano: vantagens e desvantagens. In: ALVES, S. B. **Controle Microbiano de Insetos**, 2. ed. Piracicaba: Fealq, 1998. v. 4, p. 21-37.

ATTALLA, A.; FATMA, A.; EWEIS, M. A. Preliminary investigation on the utilization of entomopathogenic nematodes as biological control agents against the peach fruit fly, *Bactrocera zonata* (Saunders) (Diptera: Tephritidae). **Egyptian Journal of Agricultural Research**, Cairo, v. 80, n. 3, p. 1045-1053, 2002.

BATEMAN, M. A. The ecology of fruit flies. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v. 17, p. 493-518, 1972.

BEAVERS, J. B.; CALKINS, C. O. Susceptibility of *Anastrepha suspense* (Diptera: Tephritidae) to steinernematid and heterorhabditid nematodes in laboratory studies. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 13, n. 1, p. 137-139, Feb. 1984.

BOEMARE, N. Biology, taxonomy and systematic of *Photorhabdus* and *Xenorhabdus*. In: GAUGLER, R. **Entomopathogenic nematology**, Wallingford: CABI Publishing, 2002. p. 35-56.

BUENO, L. N. Las moscas de las frutas: importancia económica, aspectos taxonómicos, distribución mundial de los géneros de importancia económica. In: SEMINARIO TALLER SOBRE EL MANEJO DE LAS MOSCAS DE LAS FRUTAS EN EL DEPARTAMENTO DE ARAUCA, 1., 2000, Saravena, Colombia. **Primer...** Saravena, Colombia. 2000. p. 1-19.

CARNEIRO, R. M. D. G.; SALLES, L. A. B. Patogenicidade de *Paecilomyces fumosoroseus*, isolado CG 260 sobre larvas e pupas de *Anastrepha fraterculus* Wied. **Anais da Sociedade Entomológica Brasileira**, Londrina, v. 23, n. 2, p. 341-343, ago. 1994.

CARSWELL, I.; SPOONER-HART, R.; MILNER, R. J. Laboratory susceptibility of *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) and *Bactrocera tryoni* (Froggatt) (Diptera: Tephritidae) to an isolate of *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. **Australian Journal of Entomology**, Carlton, v 37, n. 3, p. 281-284, Sept. 1998.

CARVALHO, R. S. **Metodologia para monitoramento populacional de mosca-das-frutas em pomares comerciais**. Cruz das Almas: EMBRAPA/CNPMPF, 2005. p. 1-17. (EMBRAPA/ CNPMPF. Comunicado Técnico, n. 75)

CARVALHO, R. S.; NASCIMENTO, A. S. Criação e utilização de *Diachasmimorpha longicaudata* para controle biológico de moscas-das-frutas (Tephritidae). In: Parra, J. R. P. **Controle biológico no Brasil: parasitóide e predadores**. São Paulo: Manole, 2002. p. 165-179.

CARVALHO, R. S.; NASCIMENTO, A. S.; MATRANGOLO, W. J. R. Controle biológico. IN: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p. 113-117.

CASTILLO, M. A.; MOYA, P.; HERNÁNDEZ, E.; YÚFERA, E. P. Susceptibility of *ceratitis capitata* Wiedemann (Diptera: Tephritidae) to entomopathogenic fungi and their extracts. **Biological Control**, San Diego, v. 19, n. 3, p. 274-282, Nov. 2000.

CHEN, S.; LI, J.; HAN, X.; MOENS, M. Effect of temperature on the pathogenicity of entomopathogenic nematodes (*Steinernema* and *Heterorhabditis* spp.) to *Delia radicum*. **BioControl**, Dordrecht, v.48, n. 6, p. 713-724, Dec. 2003.

DIMBI, S.; MANIANIA, N. K.; LUX, S. A.; MUEKE, J. M. Effect of constant temperatures on germination, radial growth and virulence of *Metarhizium anisopliae* to three species of african tephritid fruit flies. **BioControl**, Dordrecht, v. 49, n.1, p. 83-94, Feb. 2004.

EBSSA, L.; BORGEMEISTER, C.; POEHLING,H.M. Effects of host density and temperature on the efficacy of entomopathogenic nematodes for the control of western flower thrips (*Frankliniella occindentalis*). **DGaaE-Nachrichten**, Stuttgart, v.17, n. 1, p. 25-26, 2003.

EBSSA, L.; BORGEMEISTER, C.; POEHLING,H.M. Effects of post-application irrigation and substrate moisture on the efficacy of entomopathogenic nematodes against western flower thrips, *Frankliniella occindentalis*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v.112, n. 1, p. 65-72, July 2004.

EKESI, S.; MANIANIA, N. K.; LUX, S. A. Effect of soil temperature and moisture on survival and infectivity of *Metarhizium anisopliae* to four tephritid fruit fly puparia. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 83, n. 2, p. 157-167, June 2003.

EKESI, S.; MANIANIA, N. K.; LUX, S. A. Mortality in three african tephritid fruit fly puparia and adults caused by the entomopathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. **Biocontrol Science and Technology**, Abingdon, v. 12, n.1, p. 7-17, Feb. 2002.

EKESI, S.; MANIANIA, N. K.; MOHAMED, S. A.; LUX, S. A. Effect of soil application of different formulation of *Metarhizium anisopliae* on African tephritid fruit flies and their associated endoparasitoids. **Biological Control**, San Diego, v. 35, n. 1, p. 83-91, Oct. 2005.

EL-SADAWY, H. A. Effect of temperature and soil moisture on the infectivity of some entomopathogenic nematodes against larvae of the rice moth and flesh fly. **International Journal of Nematology**, v. 11. n. 1. p. 58-62, 2001.

FERRAZ, L. C. C. B. Nematóides entomopatogênicos. In: ALVES, S. B. **Controle microbiano de insetos**, 2. ed. Piracicaba: Fealq, 1998. v. 4, p. 541-569.

FERREIRA, D. F. Análise estatística por meio do SISVAR (Sistema para Análise de Variância) para Windows versão 4.0. In: Reunião Anual da Região Brasileira da Sociedade Internacional de Biometria. **Anais...** São Carlos: UFSCar, p. 255-258, 2000.

FITT, G. P.; O'BRIEN, R. W. Bacteria associated with four species of *Dacus* (Diptera: Tephritidae) and their role in the nutrition of the larvae. **Oecologia**, Berlin, v. 67, n. 3, p. 447-454, 1985.

FITTERS, P. F. L.; PATEL, M. N.; GRIFFIN, C. T.; WRIGHT, D. J. Fatty acid composition of *Heterorhabditis* sp. during storage. **Comparative Biochemistry Molecular Biology**, Oxford, v. 124, n. 1, p. 81-88, Sept. 1999.

FUJIE, A.; TAKATA, M.; TACHIBANA, M.; YOKOYAMA, T. Insecticidal activity of an entomopathogenic nematode, *Steinernema kushidai* (Nematoda: Steinernematidae) against *Anomala cuprea* (Coleoptera: Scarabaeidae) larvae under different soil moisture conditions. **Applied Entomology Zoology**, Tokyo, v.31, n. 3, p. 453-454, Aug. 1996.

GARCIA, A. S.; MESSIAS, C. L.; SOUZA, H. M. L.; PIEDRABUENA, A. E. Patogenicidade de *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* a *Ceratitis capitata* (Wied) (Diptera: Tephritidae). **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v. 28, n. 4, p. 424-424, dez. 1984.

GAUGLER, R. Ecological considerations in the biological control of soil-inhabiting insects with entomopatogenic nematodes. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, Amsterdam, v. 24, n. 1/3, p. 351-360, Nov. 1988.

GAUGLER, R.; CAMPBELL, J. F.; MCGUIRE, T. R. Selection for host finding in *Steinernema feltiae*. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 54, n. 3, p.363-372, Nov. 1989.

GAUGLER, R.; WANG, Y.; CAMPBELL, J.F. Aggressive and evasive behaviors in *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabaeidae) larvae: defences against entomopathogenic nematode attack. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 64, n. 3, p. 193-199, Nov. 1994.

GAZIT, Y.; ROSSLER, Y.; GLAZER, I. Evaluation of entomopathogenic nematodes for the control of mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae). **Biocontrol Science and Technology**, Abingdon, v. 10, n. 2, p. 157-164, Apr. 2000.

GEORGIS, R.; HOM, A. Introduction of entomopathogenic nematode products into Latin America and the Caribbean. **Nematropical**, Auburn, v. 22, n. 1, p. 81-98, June 1992.

GEORGIS, R.; KOPPENHÖFER, A. M.; LACEY, L. A.; BÉLAIR, G.; DUNCAN, L. W.; GREWAL, P. S.; SAMISH, M.; TAN, L.; TORR, P.; van TOL, R.W.H.M. Successes and failures in the use of parasitic nematodes for pest control. **Biological Control**, San Diego, v. 38, n. 1, p. 103-123, July 2006.

GLAZER, I. Survival biology. In: GAUGLER, R. **Entomopathogenic Nematology**, Wallingford: CABI Publishing, 2002. p. 205-220.

GRANT, J. A.; VILLANI, M. G. Effects of soil rehydration on the virulence of entomopathogenic nematodes. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 32, n. 5, p. 983-991, Oct. 2003a.

GRANT, J. A.; VILLANI, M. G. Soil moisture effects on entomopathogenic nematodes. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 32, n. 1, p. 80-87, Feb. 2003b.

GREWAL, P. S. Anhydrobiotic potential and long-term storage of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae). **International Journal for Parasitology**, Oxford, v. 30, n. 9, p. 995-1000, Aug. 2000.

GREWAL, P. S.; DE NARDO, E. A. B.; AGUILLERA, M. M. Entomopathogenic nematodes: potential for exploration and use in South America. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 30, n. 2, p. 191-205, Apr./June 2001.

GRIFFIN, C. T.; DOWNES, M. J. Low temperature activity in *Heterorhabditis* sp. (Nematoda: Heterorhabditidae). **Nematologica**, Leidem, v. 37, n. 1, p. 83-91, Jan. 1991.

HAZIR, S. STOCK, S. P.; KAYA, H. K.; KOPPENHÖFER, A. M.; KESKIN, N. Developmental temperature effects on five geographic isolates of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* (Nematoda: Steinernematidae). **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 77, n. 4, p. 243-250, May 2001.

HOWARD, D. J.; BUSH, G. L.; BREZNAK, J. A. The evolutionary significance of bacteria associated with *Rhagoletis*. **Evolution**, Lawrence, v.39, n. 2, p. 405-417, 1985.

HUSSAINI, S. S.; SHAKEELA, V.; DAR, M. H. Influence of temperature on infectivity of entomopathogenic nematodes against black cutworm, *Agrotis ipsilon* (Hufnagel and greater wax moth, *Galleria mellonella* (Linnaeus) larvae. **Journal of Biological Control, Beijing**, v.19, n. 1, p. 51-57, 2005.

IBRAF: **Instituto brasileiro de frutas.** Disponível em: <<http://www.ibraf.org.br/>>. Acesso em: 05 jan. 2007.

IBRAF: **Instituto brasileiro de frutas.** Disponível em: <<http://www.ibraf.org.br/>>. Acesso em: 26 maio 2005.

JAGDALE, G. B.; GORDON, R. Effect of propagation temperatures on temperature tolerances of entomopathogenic nematodes. **Fundamentals of Applied Nematology**, Paris, v.21, n. 2, p. 177-183, mar. 1997.

KONDO, E. Studies on the infectivity and propagation of entomogenous nematodes, *Steinernema* spp. (Rhabditida: Steinernematidae) in the common cutworm, *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). **Bulletin on the Faculty of Agriculture, Saga University**, Saga, v. 67, n. 1, p. 1-87, 1989.

KOPPENHÖFER, A. M.; KAYA, H. K.; TAORMINO, S. P. Infectivity of entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinernematidae) at different soil depths and moistures. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 57, n.2, p. 242-249, Mar. 1995.

KOPPLER, K.; PETERS, A.; VOGT, H. First results of the use of entomopathogenic nematodes against the cherry fruit fly *Rhagoletis cerasi* L. **DgaaE-Nachrichten**, Stuttgart, v. 17, n. 1, p. 14-15, 2003.

KORNEYEV, V. A. Phylogenetic relationships among higher groups of Tephritidae. IN: ALUJA, M.; NORRBOM, A. L. **Fruit flies (Tephritidae): phylogeny and evolution of behavior**. Washington: CRC Press, 1999. p. 73-113.

KUZINA, L. V.; PELOQUIM, J. J.; VACEK, D. C.; MILLER, T. A. Isolation and identification of bacteria associated with adult laboratory mexican fruit flies, *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae). **Current Microbiology**, New York, v. 42, n. 4, p. 290-294, Apr. 2001.

LABORDA, R.; BARGUES, L.; NAVARRO, C.; BARAJAS, O.; ARROYO, M.; GARCIA, E. M., MONTORO, E.; LLOPIS, E.; MARTINEZ, A.; SAYAGUES, J. M. Susceptibility of the mediterranean fruit fly (*Ceratitidis capitata*) to entomopathogenic nematode *Steinernema spp.* ("Biorend C"). **Bulletin OILB/SROP**, Dijon, v. 26, n. 6, p. 95-97, 2003.

LEWIS, E. E.; CAMPBELL, J.; GRIFFIN, C.; KAYA, H.; PETERS, A. Behavioral ecology of entomopathogenic nematodes. **Biological Control**, San Diego, v. 38, n. 1, p. 66-79, July 2006.

LEZANA-GUITIERREZ, R.; LUZ, A. T.; MOLINA-OCHOA, J.; REBOLLEDO-DOMINGUEZ, O.; PESCADOR, A. R.; LÓPEZ-EDWARDS, M.; ALUJA, M. Virulence of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) on *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae): laboratory and field trials. **Journal of Economic Entomology**, Washington, v. 93, n. 4, p. 1080-1084, Aug. 2000.

LINDEGREN, J. E. Field suppression of three fruit fly species (Diptera: Tephritidae) with *Steinernema carpocapsae*. In: INTERNATIONAL COLLOQUIUM ON INVERTEBRATE MICROBIAL CONTROL, 5., 1990, Foz de Iguacu. **Proceedings and abstracts...** Foz de Iguacu, 1990. p.223.

LINDEGREN, J. E.; VAIL, P. V. Susceptibility of mediterranean fruit fly, melon fly, and oriental fruit fly (Diptera: Tephritidae) to the entomogenous nematode *Steinernema feltiae* in laboratory tests. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 15, n. 3, p. 465-468, June 1986.

LINDEGREN, J. E.; WONG, T. T.; MCINNIS, D. O. Response of mediterranean fruit fly (Diptera: Tephritidae) to the entomogenous nematode *Steinernema feltiae* in field tests in Hawaii. **Environmental Entomology**, Lanham, v. 19, n. 2, p. 383-386, Apr. 1989.

LONG, S. J.; RICHARDSON, P. N.; FENLON, J. S. Influence of temperature on the infectivity of entomopathogenic nematodes (*Steinernema* and *Heterorhabditis* spp.) to larvae and pupae of the vine weevil *Otiorhynchus sulcatus* (Coleoptera: Curculionidae). **Nematology**, Leiden, v. 2, n. 3, p. 309-317, 2000.

MALAVASI, A. Áreas – livres ou de baixa prevalência. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p. 175-181.

MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A.; SUGAYAMA, R. L. Biogeografia. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**, Ribeirão Preto: Holos, 2000. p. 93-98.

MANOUSIS, T.; KOHAIS, S. I.; MOORE, N. F. An apparent infection with a probable picornavirus in several stocks of laboratory reared and naturally occurring populations of *Dacus oleae* Gemel pupae in Greece. **Micróbios**, Cambridge, v. 51, n. 1, p. 81-88, Jan. 1981.

MOLINA, A. J. P.; LÓPEZ, N. J. C. Producción in vivo de tres nematodos entomopatógenos com dos sistemas de infección em dos hospedantes. **Revista Colombiana de Entomología**, Santa Fe de Bogota, v. 27, n. 1-2, p. 73-78, 2001.

NASCIMENTO, A. S.; CARVALHO, R. S. Manejo integrado de mosca-das-frutas. IN: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p. 169-174.

POINAR, G. O., *Steinernema feltiae* (Steinernematidae: Rhabditida) parasitizing adult fungus gnats (Mycetophilidae: Diptera) in California. **Fundamentals Applied Nematology**, Paris, v. 15, n. 5, p. 427-430, 1992.

PROKOPY, R. J.; ZIEGLER, J. R.; WONG, T. T. Y. Deterrence of repeated oviposition by fruit-marking pheromone in *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 4, n. 1, p. 55-63, 1978.

ROSA W. DE LA.; LOPEZ, F. L.; LIEDO, P. *Beauveria bassiana* as a pathogen of the mexican fruit fly (Diptera: Tephritidae) under laboratory conditions. **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 95, n. 1, p. 36-43, Feb. 2002.

SALDANHA, L. A.; SILVA, N. M. Metodologia de criação de larvas de *Anastrepha obliqua* (Macquart, 1835) (Diptera: Tephritidae) em dieta semi-artificial. **Florida Entomologist**, Gainesville, v. 82, n. 1, p. 82-87, Mar. 1999.

SELIVON, D. Relações com plantas hospedeiras. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p. 87-91.

SALLES, L. A. B. **Bioecologia e controle da mosca-das-frutas sul-americana**. Pelotas: EMBRAPA, 1995. 58 p.

SELVAN, S.; CAMPBELL, J.F.; GAUGLER, R. Density-dependent effects on entomopathogenic nematodes (Heterorhabditidae and Steinernematidae) within an insect host. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 62, n. 3, p. 278-284, Nov. 1993.

SHAPIRO-ILAN, D. I.; GOUGE, D. H.; PIGGOTT, S. J.; FIFE, J. P. Applications technology and environmental considerations for use of entomopathogenic nematodes in biological control. **Biological Control**, San Diego, v. 38, n. 1, p. 124-133, July 2006.

SILVA, A. C. **Efeito inseticida, deterrente e supressor alimentar de alguns extratos vegetais sobre *Ceratitis capitata* (Wiedemann, 1824) (Diptera: Tephritidae) e *Ascia monuste orseis* (Latreille, 1819) (Lepidoptera: Pieridae) em laboratório**. 1990. 129 p. Tese (Doutorado em Entomologia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, MG.

SOLOMON, A.; PAPERNA, I.; GLAZER, I. Desiccation survival of the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae*: Induction of anhydrobiosis. **Nematology**, Leiden, v. 1, n. 1, p. 61-68, Feb. 1999.

SOUZA, H. M. L.; CYTRYNOWICZ, M.; MORGANTE, J. S.; PAVAN, O. H. Occurrence of *Anastrepha fraterculus* (Wied.), *Ceratitis capitata* (Wied.) and *Silba* spp. eggs in ovoposition bores on three host fruits. **Revista Brasileira de Entomologia**, Curitiba, v. 27, n. 3/4, p. 191-195, dez. 1983.

SOUZA FILHO, M. F. Mosca-das-frutas. In: REUNIÃO ITINERANTE DE FITOSSANIDADE DO INSTITUTO BIOLÓGICO: Frutas, 7., 2002, Indaiatuba. **Anais...** Indaiatuba: Instituto Biológico, 2002. p. 14-23.

STARK, J. E. P.; LACEY, L. A. Susceptibility of western cherry fruit fly (Diptera: Tephritidae) to five species of entomopathogenic nematodes in laboratory studies. **Journal of Invertebrate Pathology**, San Diego, v. 74, n. 2, p. 206-208, Sept. 1999.

STOCK, S. P.; MRÁČEK, Z.; WEBSTER, J. M. Morphological variation between allopatric populations of *Steinernema kraussei* (Steiner, 1923) (Rhabditida: Steinernematidae). **Nematology**, Leiden, v. 2, n. 2, p. 143-152, 2000.

STUART, R. J.; BARBERCHECK, M. E.; GREWAL, P. S.; TAYLOR, R. A. J.; HOY, C. W. Population biology of entomopathogenic nematodes: concepts, issues, and models. **Biological Control**, San Diego, v. 38, n. 1, p. 80-102, July 2006.

SUBRAMANIAN, S.; SENTHAMIZH, K. Effects of moisture on the efficacy of nematodes. **Current Nematology**, Allahabad, v. 15, n. 1/2, p. 65-67, 2004.

TOL, R. van; W. H. M.; VAN DIJK, N.; SABELIS, M. W. Host plant preference and performance of the vine weevil *Otiorhynchus sulcatus*. **Agricultural Forest Entomology**, Oxford, v. 6, n. 4, p. 267-278, Nov. 2004.

TOLEDO, J.; IBARRA, J. E.; LIEDO, P.; GÓMEZ, A.; RASGADO, M. A.; WILLIAMS, T. Infection of *Anastrepha ludens* (Diptera: Tephritidae) larvae by *Heterorhabditis bacteriophora* (Rhabditida: Heterorhabditidae) under laboratory and field conditions. **Biocontrol Science and Technology**, Abingdon, v. 15, n. 6, p. 627-634, Sept. 2005.

TOLEDO, J.; RASGADO, M. A.; IBARRA, J. E.; GÓMEZ, A.; LIEDO, P.; WILLIAMS, T. Infection of *Anastrepha ludens* following soil applications of *Heterorhabditis bacteriophora* in a mango orchard. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, Dordrecht, v.119, n. 2, p. 155-162, May 2006.

WHITE, G. F. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. **Science**, Washington, v. 66, p. 302-303, 1927.

WHITE, I. A.; ELSON-HARRIS, M. M. Introduction. In: WHITE, I. A.; ELSON-HARRIS, M. M. **Fruit flies of economic significance: their identification and bionomics**, Australia: CAB International, 1992^a. p. 1-14.

WHITE, I. A.; ELSON-HARRIS, M. M. Terminology. In: WHITE, I. A.; ELSON-HARRIS, M. M. **Fruit flies of economic significance: their identification and bionomics**. Australia: CAB International, 1992b. p. 30-43.

WHITE, I. A.; ELSON-HARRIS, M. M. The classification of Tephritid fruit flies. In: White, I. A.; Elson-Harris, M. M. **Fruit flies of economic significance: their identification and bionomics**. Australia: CAB International, 1992c. p. 44-52.

WOODRING, J. L.; KAYA, H. K. **Steinernematidae and Heterorhabditidae nematodes: a handbook of techniques southern cooperative**. Arkansas: Arkansas Agricultural Experiment Station Fayetteville, 1988. (Series Bulletin).

YEE, W. L.; L. A. LACEY. Stage-specific mortality of *Rhagoletis indifferens* (Diptera: Tephritidae) exposed to three species of *Steinernema* nematodes. **Biological Control**, San Diego, v. 27, n. 3, p. 349-356, July 2003.

YUL, C.; WONN, L.; SOOK, Y.; MYEONG, L.; THI, H. Effects of temperature and nematodes concentration on pathogenicity and reproduction of entomopathogenic nematode, *Steinernema carpocapsae* Pocheon strain (Nematode: Steinernematidae). **Korean Journal of Applied Entomology**, Seoul, v. 41, n. 4, p. 269-277, 2002.

ZUCCHI, R. A. Taxonomia. In: MALAVASI, A.; ZUCCHI, R. A. **Moscas-das-frutas de importância econômica no Brasil: conhecimento básico e aplicado**. Ribeirão Preto: Holos, 2000. p. 13-24.

ZUCCHI, R. A. Mosca-do-mediterrâneo, *Ceratitis capitata* (Diptera: Tephritidae). In: VILELA, E. F.; ZUCCHI, R. A.; CANTOR, F. **Histórico e Impacto das Pragas Introduzidas no Brasil**. Ribeirão Preto: Holos, 2001. p. 15-22.

ANEXO

ANEXO A

FIGURA 1A: Gaiola de criação de adultos de <i>Ceratitis capitata</i>	61
FIGURA 2 A: Dieta fornecida aos adultos de <i>Ceratitis capitata</i>	61
FIGURA 3A: Dieta fornecida às larvas de <i>Ceratitis capitata</i>	61
FIGURA 4A: Bandeja contendo vermiculita para as larvas empuparem.....	61
FIGURA 5A: Câmera seca utilizada para multiplicação dos nematóides.....	61
FIGURA 6A: Armadilha de White utilizada para coleta dos nematóides.....	61
FIGURA 7A: Placa de bioensaio com larvas de 3° instar de <i>C. capitata</i>	62
FIGURA 8A: Placa de bioensaio com pupas de <i>C. capitata</i>	62
FIGURA 9A: Pote plástico utilizado nos bioensaios.....	62
FIGURA 10A: Pote plástico com larvas de 3° instar de <i>C. capitata</i>	62
FIGURA 11A: Sintomatologia de pupa de <i>C. capitata</i> morta por <i>Steinernema</i> sp.....	62
FIGURA 12A: Sintomatologia de pupa de <i>C. capitata</i> morta por <i>Heterorhabditis</i> sp.....	62
FIGURA 13A: Sintomatologia de pupa de <i>C. capitata</i> morta por <i>Steinernema</i> sp.....	63
FIGURA 14A: Sintomatologia de pupa de <i>C. capitata</i> morta por <i>Heterorhabditis</i> sp.....	63
FIGURA 15A: Larva de <i>C. capitata</i> infectada com nematóide.....	63
FIGURA 16A: Pupa de <i>C. capitata</i> infectada com nematóide.....	63

ANEXO A



FIGURA 1A - Gaiola de criação de adultos de *Ceratitidis capitata*.



FIGURA 2A - Dieta fornecida aos adultos de *Ceratitidis capitata*.



FIGURA 3A - Dieta fornecida às larvas de *Ceratitidis capitata*.



FIGURA 4A - Bandeja contendo vermiculita para desenvolvimento das pupas.



FIGURA 5A - Câmera seca utilizada para multiplicação dos nematóides.



FIGURA 6A - Armadilha de White utilizada para coleta dos nematóides.



FIGURA 7A - Placa de bioensaio com larvas de 3º ínstar de *C. capitata*.



FIGURA 8A - Placa de bioensaio com pupas de *C. capitata*.



FIGURA 9A - Pote plástico utilizado nos bioensaios.



FIGURA 10A - Pote plástico com larvas de 3º ínstar de *C. capitata*.



FIGURA 11A - Sintomatologia de larva de *C. capitata* morta por *Steinernema* sp.



FIGURA 12A - Sintomatologia de larva de *C. capitata* morta por *Heterorhabditis* sp.



FIGURA 13A - Sintomatologia de pupa de *C. capitata* morta por *Steinernema* sp.



FIGURA 14A - Sintomatologia de pupa de *C. capitata* morta por *Heterorhabditis* sp.



FIGURA 15A - Larva de *C. capitata* infectada com nematóide.



FIGURA 16A - Pupa de *C. capitata* infectada com nematóide.